

**Die Beeinflussung
der Fettresorption und der Darmmotilität
durch orale Gaben
von Chlortetracyclin und Oxytetracyclin**

Werner Fischer
aus
Nürnberg

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen

Direktor: Prof. Dr. N. Henning

**Die Beeinflussung
der Fettresorption und der Darmmotilität
durch orale Gaben
von Chlortetracyclin und Oxytetracyclin**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität

zu

Erlangen

Vorgelegt von

Werner Fischer

aus Nürnberg



D 29

Dekan: Professor Dr. C. Korth

Referent: Professor Dr. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 6. Dezember 1956.

Meinen Eltern

Die Entdeckung antibiotischer Substanzen in verschiedenen Pilzarten stellte neue biologische Probleme. Neben der heute noch nicht endgültig geklärten Frage nach dem Wirkungsmechanismus dieser Substanzen auf die verschiedenen Mikroorganismen ist es für den Arzt von großem Interesse, inwieweit die Antibiotika auf Grund toxischer oder pharmakologischer Eigenschaften in die Lebensvorgänge des Makroorganismus einzugreifen vermögen.

Seit der Entdeckung des Penicillins ist eine Vielzahl antibiotischer Substanzen gefunden worden. Eine therapeutisch wichtige Gruppe stellen die sogenannten Tetracycline dar. Da sie häufig oral verabfolgt werden, erhebt sich die wichtige Frage, ob dadurch der normale Funktionsablauf im Magen-Darm-Kanal und insbesondere die Resorption beeinflusst wird. Eine derartige Möglichkeit läge in der Veränderung der normalen Darmflora, die andere in der direkten Wirkung der Tetracycline selbst. Da die orale Verabfolgung von Aureomycin und Terramycin einerseits nach klinischen Berichten zu gastrointestinalen Störungen führt, andererseits aber in zahlreichen Versuchen eine wachstumssteigernde Wirkung entfaltet, erschien es notwendig, die Frage der Resorptionsbeeinflussung eingehender experimentell zu klären.

Untersuchungen am behandelten Patienten hätten auf Grund des wenig einheitlichen Untersuchungsgutes keine hinreichenden Schlüsse zugelassen. Deshalb wurde der Tierversuch vorgezogen und die Ratte als Versuchstier gewählt. Da den Proteinen, Fetten und Kohlehydraten ein gesonderter Resorptionsmechanismus zukommt, war an ein verschiedenartiges Verhalten unter enteraler Antibiose zu denken. Die Ausdehnung der Fragestellung auf alle drei Nährstoffgruppen wäre im Rahmen dieser Arbeit zu umfangreich gewesen. Sie wurde daher auf die Fettaufnahme und in engem Zusammenhang damit auf die Resorption eines lipoidlöslichen Vitamins beschränkt. Die Ergebnisse konnten zu Versuchen, die in den Laboratorien unserer Klinik unter vergleichbaren Bedingungen für die Resorption von Glukose durchgeführt wurden, in Beziehung gebracht werden. Da die Resorption von verschiedenen Faktoren, insbesondere der Fermentaktivität und der Darmmotilität abhängt, wurden auch diese Größen untersucht. Die Arbeit gliedert sich daher in folgende Abschnitte:

- I. Nahrungsfettbilanz der Ratte
- II. Beeinflussung der Fettresorption
- III. Resorption von Vitamin A
- IV. Magen-Darm-Passage
- V. Lipase und Diastase
- VI. Schrifttum und abschließende Betrachtung



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. N. HENNING).

Die Nahrungsfettbilanz der Ratte.

Von

W. FISCHER und K. H. KIMBEL.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 10. November 1954.)

Seit langem ermittelt man die vom Darm aufgenommene Fettmenge aus der Differenz zwischen Aufnahme und Ausscheidung. Die Prüfung am Blutfettgehalt (gravim. Analyse, Chylomikron) ist wie der Blutspiegel fettlöslicher Testsubstanzen qualitativ und umstritten. Die genannte Fettbilanz setzt voraus, daß alles nicht resorbierte Fett und seine Spaltstücke erfaßt werden, daß praktisch kein Fett von Darmbakterien verbrannt oder neu gebildet und kein Zuwachs durch sezerniertes Fett entsteht. Sie sagt nichts über den zeitlichen Ablauf der Fettaufnahme aus, der in der Dauer zwangsläufig durch die Passagezeit bestimmt wird, wenn letztere nicht durch Tötung des Tieres unterbrochen werden soll (IRVIN, HOUSE, STEENBOCK und TEMPLIN). Ebenso bleibt offen, in welcher Form (Neutralfett, Fettsäuren) das Fett aufgenommen wird. Es ist deshalb notwendig, sich bei Anwendung der Methode zu vergewissern, daß die genannten Voraussetzungen gegeben bzw. durch Korrekturen erfüllt werden.

Wir prüften kürzlich, ob die enterale Antibiose mit Aureomycin und Terramycin die Nahrungsfettbilanz der Ratte beeinflußt. Die unerwartete Zusammensetzung des nicht resorbierten Fettes beim unbehandelten Tier veranlaßte uns, die Beziehungen zwischen aufgenommenem und ausgeschiedenem Fett bei der Ratte näher zu studieren.

Methodik.

Wir verwendeten 180—200 g schwere männliche Albinoratten, die nach mehrwöchiger Gewöhnung bei Mischfutter auf eine fettarme Basisdiät gesetzt wurden, der genau abgemessene Fettmengen mit der Schlundsonde zugefüttert wurden. Sie hatte folgende Zusammensetzung (Tagesmenge):

2 g	entfettetes Casein (nach BURR u. BURR)
8 g	Glucose
0,4 g	Salzgemisch nach MCCOLLUM
0,2 ml	Vitaminpaste, enthaltend etwa
420	IE Vitamin A
0,2	mg Aneurin

0,25 mg	Lactoflavin
2,5 mg	Nicotinsäureamid
0,8 mg	pantothensaures Ca
0,3 mg	Pyridoxin
0,17 γ	Vitamin B ₁₂
0,04 mg	Folsäure
8 mg	Vitamin C
83 IE	Vitamin D ₃
0,3 mg	Vitamin E

Wasser ad libitum.

Das verwendete Casein wurde durch einwöchige Extraktion nach vorheriger Umfällung aus 0,085 n NaOH mit n HCl und n Essigsäure 1:1 und Entwässerung mit 96% Äthanol im Soxhlet-Apparat gewonnen und enthielt etwa 0,3% Fett (BURR u. BURR.). Die Vitaminpaste enthielt nach Angabe des Herstellers 6% Milchl-fett.

Wurde in Vorversuchen fettarm ernährt, ersetzten wir das Olivenöl durch eine kalorisch entsprechende Glucosezulage. Die Tiere nahmen die Nahrung gerne; in den ersten Tagen trat ein vorübergehender Gewichtsabfall ein, der nach kurzer Zeit ausgeglichen wurde. Vitaminmangelerscheinungen wurden nicht beobachtet. Die Faecesmenge geht durch die ballastarme Kost zurück, Konsistenz und Farbe blieben unverändert.

Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten, die einen dreifachen Boden aus grobem, dann feinem Maschendraht und Zinkblech hatten. Die Faeces sammelten sich auf dem Zwischenboden an, wo sie dem Zugriff der Tiere entzogen waren. Die Freßnapfe wurden sofort nach der Fütterung entfernt. Nach 48stündiger „fett- armer“ Ernährung (Basiskost), die noch rund 25 mg Fett in der Tagesmenge enthielt, bekamen die Tiere mit der Schlundsonde 2 g Olivenöl. Die Faeces wurden über die nächsten 48 Std gesammelt, nachdem aus Vorversuchen bekannt war (s. Ergebnisse), daß die Fettausscheidung innerhalb von 40 Std abgeschlossen ist. Sie kamen sofort in 2,5% HCl in 25% NaCl, wodurch die bakterielle Zersetzung unterbrochen wurde. Freie Fettsäuren und Neutralfette wurden getrennt nach VAN DE KAMER, TEN BOKKEL-HUININK u. WEYERS bestimmt. Hierzu wurden die einige Stunden in obiger Lösung macerierten Faeces 3 min am Rückfluß aufgeköcht, rasch abgekühlt, 40 ml Äthanol (95%) mit 0,4% Amylalkohol und 50 ml Petroläther (Sp. 40 –60°) zugegeben und 1 min geschüttelt. Der Alkohol wurde durch 3stündiges Kochen mit 2%iger NaOH von verseifbaren Rückständen befreit, der Petroläther war frei von Rückständen. Nach Phasentrennung wurden 25 ml Petroläther in 100 ml Erlenmeyerkolben pipettiert, der Petroläther nach Zusatz eines Stückchens Filtrierpapier abgedampft, der Rückstand in 5 ml Äthanol aufgenommen und mit 0,05 bzw. 0,1 n KOH in Isobutanol zur Bestimmung der freien Fettsäuren und Seifen titriert. Die Titerunbeständigkeit durch CO₂-Aufnahme macht tägliche Titerstellung gegen 0,1 n HCl erforderlich. Zur Bestimmung des Neutralfettes wurde mit 5 ml 0,1 n KOH in Isobutanol versetzt, 15 min gekocht und der Alkaliüberschuß mit 0,1 n HCl gegen Thymolblau zurücktitriert. Die Berechnung der freien Fettsäuren erfolgte nach der Formel

$$A \cdot 284 \cdot 1,04 \cdot 2 \\ 10000$$

- A = ml verbrauchte 0,1 n KOH
 284 = durchschnittliches Molekulargewicht der Fettsäuren (Stearinsäure)
 1,04 = Verlustkorrektur für 3% im Alkohol verbl. Fettsäuren und Volumzunahme des Petroläthers,

$$\text{des Neutralfettes nach } \frac{(B-C) \cdot 297 \cdot 1,01 \cdot 2}{10000}$$

B = ml im Leerwert bei Titration von 10 ml isobutylalkoholischer KOH verbrauchte 0,1 n HCl

C = ml 0,1 n HCl zur Rücktitration der bei der Verseifung nicht verbrauchten isobutylalkoholischen KOH

297 = durchschnittliches Molekulargewicht für Neutralfett ($\frac{1}{3}$ MG des Tristearids)

1,01 = Verlustkorrektur für Volumzunahme des Petroläthers.

Ergebnisse.

1. *Verweildauer einer einmaligen Fettgabe im Darm.* Die Faeces von 32 Ratten, die je 2 g Olivenöl p. o. bekommen hatten, wurden 4stündlich gesammelt und auf Neutralfett und freie Fettsäuren untersucht. Die Tiere waren 48 Std vor dem Versuch nüchtern. Die Ergebnisse sind in Abb. 1 dargestellt und zeigen, daß die Ausscheidung nicht resorbierter

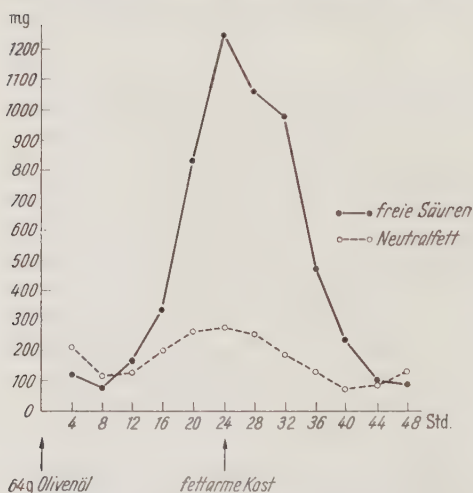


Abb. 1. Neutralfett (○—○) und Fettsäuregehalt (●—●) der Faeces von 32 Ratten, über je 4 Std gesammelt. Die Untersuchung erstreckte sich nach einer einmaligen Gabe von 2 g Olivenöl über insgesamt 48 Std.

Der Neutralfettgehalt der 48 Std-Faeces von 24 Ratten, die über 17 Wochen 3mal wöchentlich bei sonst fettarmer Basisdiät mit 2 g Olivenöl belastet wurden, zeigte keinen Unterschied gegenüber den im Versuch 2 gewonnenen Werten. Die freien Fettsäuren stiegen dagegen erheblich über den Leerwert an, wobei für jedes Tier eine charakteristische Resorptionsgröße besteht, die in mehreren Versuchen reproduzierbar ist. Die Einzelergebnisse gehen aus *Tabelle 2* hervor.

Fettsäuren und Fette zwischen 12 und 40 Std erfolgt. Das Maximum scheint tageszeitabhängig in den Morgenstunden mit dem Defäkationsgipfel zusammenzufallen.

2. *Die Fettausscheidung bei nahezu fettfreier Diät.* 8 Ratten, die die im methodischen Teil beschriebene Basisdiät mit einem Fettgehalt von 25 mg bekamen, schieden während einer Versuchsperiode von 20 Tagen im Mittel 81,5 mg Fett, davon 20,5 mg freie Fettsäuren aus. *Tabelle 1* zeigt die Werte im einzelnen.

3. *Ausscheidung von Neutralfett und freien Fettsäuren nach Gabe von 2 g Olivenöl p. o.*

4. *Neutralfett- und Fettsäureausscheidung nach Gabe von 4,5 g Olivenöl p. o.* Zur Prüfung der maximalen Resorptionsfähigkeit wurden 8 Ratten, die alle 48 Std bei sonst fettarmer Basisdiät 4,5 g Olivenöl bekamen, auf die Neutralfett- und Fettsäureausscheidung untersucht. Während der Gehalt der Faeces von 48 Std an freien Fettsäuren die in Tabelle 2 genannten Werte noch überschreitet, zeigt jetzt auch das Neutralfett einen geringen Anstieg. Der Umfang der Resorption bleibt dagegen mit etwa 91% unverändert (Tabelle 3). Die Fettsäure-Neutralfettquotienten für die beiden Versuchsreihen sind in Tabelle 4 dargestellt.

Diskussion.

Unsere Versuche ergaben, daß die Ratte ohne Anpassung über lange Zeit die erstaunliche Menge von 10 g Fett/kg/48h zu 91% $\pm 3,3\%$ resorbiert. Die Fettdosis läßt sich bei gleicher Ausnutzung noch auf 22,5 g/kg/48h steigern, bevor bei einzelnen Tieren die Stuhlkonsistenz abnimmt,

Tabelle 1. *Ausscheidung freier Fettsäuren und Neutralfett (Kursiv) bei fettarmer Diät (25 mg tgl.).*

Angaben in mg Fettsäure (MG 284) bzw. $\frac{1}{3}$ Triglycerid (MG 297). $V = \text{Variabilitätskoeffizient} = \frac{\sigma}{M} \cdot 100$.

Tier	Tage										Summe	M										
	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19												
25	30	84	21	39	11	43	19	63	16	49	16	40	27	68	20	47	14	54	201	555	20	55
26	21	78	11	69	18	54	16	41	23	59	18	50	22	58	28	55	23	58	195	578	19	58
27	20	75	19	66	21	62	14	40	—	61	22	64	20	70	17	40	15	51	20	66	19	60
28	20	78	16	—	10	46	20	60	22	65	29	73	23	61	16	46	16	39	18	78	190	546
29	19	78	—	58	15	44	—	—	20	63	21	63	15	54	24	52	25	42	25	71	164	525
30	35	98	14	47	19	53	26	77	14	49	25	71	27	65	20	47	14	58	24	78	218	643
31	26	82	19	69	15	66	21	57	21	57	20	58	23	40	25	69	26	66	37	95	233	659
32	19	55	23	56	—	—	23	59	15	54	28	88	18	80	14	59	24	51	24	77	188	579
Summe	190	628	123	404	109	368	139	397	131	457	179	507	175	496	164	415	162	431	185	577		
M	24	79	18	58	16	53	18	57	19	57	22	63	22	62	21	52	20	54	23	72		
Gesamtmittel: 20,5 mg $\sigma = \pm 5,5$ mg $V = 26,8$																						
61,0 mg $+ 15,0$ mg 26,1																						

Tabelle 2. Ausscheidung von freien Fettsäuren und Neutralfett (Kursiv) nach Gabe von 2 g Olivenöl p. o. in 48stündigen Abständen über 17 Wochen.
Die Untersuchungen wurden einmal wöchentlich in 2 Perioden von 4 Wochen durchgeführt.

Tier	Woche																Summe	M		
	1	2	3	4	14	15	16	17												
1	145	90	91	51	335	52	102	78	376	56	242	68	127	66	99	70	1517	531	189	67
2	176	63	286	51	182	68	163	69	164	44	103	75	129	63	145	75	1348	508	169	63
3	116	42	157	65	213	63	170	62	384	67	251	60	190	43	243	54	1724	456	216	57
4	205	54	186	65	240	83	183	57	220	72	131	69	153	54	110	49	1328	503	179	63
5	316	56	188	79	158	54	115	69	184	56	111	86	273	75	211	66	1556	541	194	68
6	218	32	187	76	104	65	131	57	182	93	153	78	202	73	167	56	1344	530	168	66
7	114	54	132	63	239	48	144	51	64	61	90	69	167	59	181	71	1203	536	150	67
8	169	77	175	73	126	71	149	55	146	61	143	80	178	63	193	64	1271	586	159	73
9	109	65	129	89	182	91	109	68	228	66	143	80	178	63	193	64	1271	586	159	73
10	225	42	177	87	128	66	334	76	352	83	96	57	194	79	287	86	1793	576	224	72
11	171	78	268	72	128	82	150	75	143	71	184	50	133	60	165	65	1342	553	168	69
12	168	69	117	51	125	78	148	63	75	84	143	78	106	54	87	44	969	521	121	65
13	247	81	151	66	163	75	109	60	155	68	181	74	265	45	312	78	1583	547	198	69
14	333	47	88	63	241	58	209	46	101	66	103	56	196	51	198	43	1469	430	185	54
15	130	96	130	66	157	51	226	78	200	59	260	76	158	66	165	87	1426	479	178	72
16	180	75	180	69	232	67	116	51	198	52	120	44	193	70	197	65	1416	493	177	62
17	112	57	229	54	140	69	177	86	211	68	206	93	181	75	209	57	1465	559	189	70
18	329	65	124	54	418	50	237	63	253	47	403	55	200	66	312	65	2276	465	285	58
19	163	58	258	76	142	57	224	70	120	70	142	65	245	96	198	86	1492	578	187	72
20	193	75	142	55	244	61	294	46	183	63	171	51	164	63	176	73	1567	487	196	61
21	187	50	129	78	194	74	157	55	153	59	150	75	169	69	136	76	1274	536	159	67
22	137	69	159	68	85	78	189	55	114	38	176	62	132	57	202	81	1194	508	149	64
23	161	60	112	112	115	66	148	85	145	53	121	68	111	75	94	65	907	584	113	73
24	121	78	149	61	130	53	134	73	143	64	152	78	116	78	149	57	1094	542	137	68
Summe	4425	1533	3944	1644	4391	1580	4118	1548	4494	1523	4121	1635	4151	1551	4454	1580				

Gesamtmittel = 178 mg $\sigma = \pm 66,3$ mg $V = 37,2$
 $65,5$ mg $\pm 13,0$ $20,0$

aber sonst keine Veränderungen zu beobachten sind. Die Verdauungskapazität des Menschen für Fett wird auf etwa 175—200 g, d. h. 2,3 bis 2,6 g/kg veranschlagt. Sie beträgt, wenn man sie zur Ratte in Beziehung setzen darf, nur etwa ein Zehntel ihrer Fettaufnahmefähigkeit. Der Unterschied wird durch die Befunde von FUERTH und WINIBECK verständlich, daß die zur Fettresorption verfügbare Cholsäure bei der Ratte gegenüber Kleinkind und Katze den relativ höchsten Wert annimmt. Wenn auch nach FAVARGER sowie REISER c. s. der Resorption nur eine

Tabelle 3. *Ausscheidung freier Fettsäuren und Neutralfett (Kursiv) nach Gabe von 4,5 g Olivenöl in 48stündigen Abständen über 9 Tage.*

Tier Nr.	Tage										Σ	M		
	1		3		5		7		9					
25	536	107	227	72	277	70	335	67	387	58	1762	374	352	75
26	429	86	531	105	440	109	412	88	548	106	2360	494	472	99
27	371	75	315	66	311	78	399	89	315	77	1711	385	342	77
28	415	84	678	126	450	101	378	84	435	81	2356	476	471	95
29	339	69	470	51	413	93	435	107	364	72	2021	392	404	78
30	530	104	324	99	388	90	451	101	422	89	2115	483	423	97
31	581	113	570	84	262	78	356	75	399	76	2168	426	434	85
32	275	62	298	74	278	68	255	57	261	60	1367	321	273	64
Σ	3476	700	3413	677	2819	687	3021	668	3131	619				
M	436	88	427	85	352	86	378	84	391	77				
Gesamtmittel 397 mg $\sigma \pm$ 102,4 mg $V = 26$														
84 17,6 21														

30—40% Hydrolyse vorangeht, ist auch an den relativ höheren Gesamtlipasegehalt und das Vorkommen sog. atoxylresistenter Lipase bei der Ratte zu denken (HENNING u. HEINKEL). Wie eingangs erwähnt, muß man vor Aufstellung der Fettbilanz wissen, ob alles ausgeschiedene Fett aus der Nahrung stammt. Eine gewisse Vorstellung gibt davon der Fettgehalt des Hungerkotes bzw. desjenigen bei fast fettfreier Kost. Wir fanden bei einer Diät, die 25 mg Fett/Tag enthielt, über 20 Tage eine Fettausscheidung von durchschnittlich 83,5 mg $\pm$ 25%. Das heißt, daß dieses Fett keinesfalls der Resorption entgangen ist, sondern bei der ausgezeichneten Fettaufnahme der Ratte jenseits der resorbierenden Darmabschnitte sezerniert oder bakteriellen Ursprungs ist. Das nicht aus der Nahrung stammende Stuhlfett fanden wir im Mittel aus 26% Fettsäuren, hauptsächlich also aus Neutralfett bestehend. Letzteres muß entweder örtlich oder zeitlich der Lipasewirkung entgangen sein, die das einer Olivenölgabe entstammende, nicht resorbierte Fett, wie wir später fanden, fast vollständig aufspaltet. Es kann deshalb auch kaum durch Desaminierung von Aminosäuren oder aus Kohlenhydraten entstanden

sein, zumal hierbei entstehende Fettsäuren noch im Dickdarm resorbiert werden können (LEHNARTZ). Die meisten Autoren nehmen an, daß das Stuhlfett bei fettarmer bzw. fettreicher Ernährung aus den Darmsekreten und desquamierten Epithelien bestehe (SPERRY u. BLOOR, HEUPKE). Auch die Möglichkeit einer Exkretion aus dem Blutfett wird wegen ähnlicher chemischer Eigenschaften diskutiert (KRAKOWER). Wie auch

Tabelle 4. *Fettsäure-Neutralfettquotienten oben der Einzeltiere über die jeweilige Versuchsdauer, unten das Tagesmittel aller Tiere der verschiedenen Versuchsreihen.*

Fettarme Kost		2 g Olivenöl				4,5 g Olivenöl	
	0,36	2,82	2,18	2,70		4,70	
	0,33	2,69	3,11	4,90		4,77	
	0,32	3,79	2,44	2,59		4,44	
	0,31	2,85	1,87	3,21		4,95	
	0,35	2,85	2,87	2,37		5,18	
	0,34	2,55	3,43	2,33		4,36	
	0,35	3,05	2,47	1,55		5,11	
	0,31	2,25	2,86	2,01		4,26	

Tage	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19
fettarme Kost	0,30	0,31	0,30	0,31	0,33	0,35	0,35	0,40	0,37	0,32

Wochen	1	2	3	4	14	15	16	17
2 g Öl	2,84	2,40	2,76	2,65	2,97	2,53	2,66	2,82

Tage	1	3	5	7	9
4,5 g Öl	4,95	5,02	4,20	4,50	5,08

SPERRY halten wir eine Herkunft aus Darmbakterien für unwahrscheinlich, da, wie wir später berichten werden, partielle Sterilisierung des Darms Menge und Zusammensetzung des nicht der Nahrung entstammenden Fettes unbeeinflußt läßt. Versuche mit deuteriertem Fett haben das kürzlich bestätigt. Die Menge des von der Ratte bei sehr fettarmer Kost ausgeschiedenen Fettes ist mit 81,5 mg relativ höher als die des Menschen (SPERRY, BLOOR, BÜRGER 3,1 — 6,5 g, HILL u. BLOOR 1,76 g, LEWIS u. PARTIN 0,16 — 5,4).

Wie wir eingangs feststellten, wurde bei unseren Belastungen von den Tieren Olivenöl zu 91% resorbiert, was mit der Fettausscheidung beim Menschen bei allerdings viel kleinerer Dosis recht gut übereinstimmt (BÜRGER u. HABS 8%, WENDT 5—8%, selten 10%). Bringt man das nicht aus der Nahrung stammende Stuhlfett in Abzug, so verbleiben beim Menschen zwischen 7 und 2%. Bei unseren Angaben für die Ratte

ist die konstante, nicht aus der Nahrung stammende Neutralfettmenge von im Mittel 63 mg in Abzug gebracht. Die Schwankungen des letztgenannten Anteils scheinen zunächst die Beurteilung der Zusammensetzung des nicht resorbierten Fettes in Frage zu stellen. Betrachtet man jedoch den Anteil des Neutralfettes der fettarm ernährten und der mit 2 g Olivenöl belasteten Tiere, so fällt auf, daß sich an der Neutralfettausscheidung praktisch nichts geändert hat. Der Zuwachs an nicht resorbiertem Fett scheint ausschließlich durch Fettsäuren und Seifen bedingt. Analoge Untersuchungen beim Menschen waren bislang nicht bekannt. Unlängst haben aber LEWIS u. PARTIN 3 Patienten (1 Kieferoperierten, 1 Colitisrekonvaleszentin und 1 Ulcuskranken) nahezu fettfrei ernährt. Der Fettgehalt der flüssigen Kost war unter 25 mg/l. Sie fanden bei dem erstgenannten Patienten in 12 Einzelbestimmungen eine mittlere tägliche Gesamtfettausscheidung von 1,3 g, wovon $29\% \pm 6,34$ aus Fettsäuren bestand. Das stimmt gut mit dem Fettsäure-Neutralfettverhältnis unserer Ergebnisse an Ratten überein, die im Mittel 25,5% Fettsäuren ausschieden. Bei den weiteren magendarmkranken Patienten wurden in nur 1 bzw. 3 Bestimmungen Fettsäuren und Neutralfett zu gleichen Teilen gefunden, wobei die tägliche Fettausscheidung mit 2,6 bzw. 2,7 g doppelt so hoch wie bei der chirurgisch kranken Vp. war. Der von den Autoren angestellte Vergleich mit der N-Ausscheidung machte eine bakterielle bzw. desquamative Herkunft des Stuhlfetts bei extrem fettarmer Ernährung unwahrscheinlich. Von den älteren Autoren hatte FRIEDRICH VON MÜLLER nach Milchkost 6,9 bzw. 7,2% des Nahrungsfettes im Stuhl wiedergefunden. Davon waren 20,5 (3,9¹) bzw. 27,8% (2,6) ungespalten, der überwiegende Teil lag also als freie Fettsäure bzw. Seife vor. GROSS gibt für den Gesunden bei einer Fettausscheidung von 2,5% des Nahrungsfettes 35,4% (1,8) Neutralfett im Stuhl an, HOESSLIN u. KASHIWADO fanden 53% (0,9), LEPINE sogar bis 75% (0,33) Neutralfettgehalt im Stuhl. Unterstellen wir beim Menschen der Ratte analoge Verhältnisse der Fettbilanz, dann lassen sich die erheblichen Differenzen zwischen den Angaben der Autoren dadurch erklären, daß die Neutralfettausscheidung zwar konstant, aber in % der der Gesamtfettausscheidung ausgedrückt wird. Bei niedriger Fettzufuhr wird daher der Neutralfettanteil relativ hoch gefunden, bei fetten Mahlzeiten dagegen relativ niedrig. So fanden wir z. B. bei den fettarm ernährten Tieren den gleichen niedrigen Fettsäure-Neutralfettquotienten von 0,3 wie LEPINE bei seinem Patienten. Bei den mit 2 g Olivenöl belasteten Tieren lag der Quotient zwischen 1,55 und 4,9, wobei eine besonders gute bzw. schlechte individuelle Resorptionsfähigkeit vorlag. Wie bereits erwähnt, ist die individuelle Fettausnutzung in mehreren Versuchen auffallend konstant, wie auch von CREMER und LINGEN bei Versuchen nach der

¹ In Klammern ist der Fettsäure-Neutralfettquotient angegeben.

Chromtrioxydmethode gefunden wurde. Bei der erheblich geringeren Fettose bei Menschen (2 g Olivenölentsprechen 750 g beim Menschen!) ist in Einzelfällen mit einer noch besseren Resorption als in unseren Rattenversuchen zu rechnen, so daß auch beim normal Ernährten niedrige Fettsäure-Neutralfettquotienten zu erwarten sind.

Die unerwartete Konstanz der Neutralfettausscheidung der fettarm ernährten und mit 2 g Olivenöl belasteten Tiere, die beim Vergleich der Gruppen statistisch gesichert werden konnte, veranlaßte uns, mit noch höheren Fettgaben zu prüfen, ob eine vermehrte Neutralfettausscheidung provoziert werden kann. Während der Gehalt der Faeces an freien Fettsäuren auf 4,5 g Olivenöl im Mittel von 178 auf 397 mg, also um 219 mg anstieg, betrug die Zunahme des Neutralfetts nur 18,5 mg (von 65,5 auf 84 mg). Der Neutralfettzuwachs kann entweder auf nicht mehr vollständige Hydrolyse oder aber auf vermehrte Exkretion zurückgeführt werden. Der Fettsäure-Neutralfettquotient ist auf 4,2—5,2 angestiegen, obwohl die Fettresorption ebenfalls 91% erreichte.

Aus unseren Ergebnissen geht neben einer erstaunlichen Fetttoleranz der Ratte hervor, daß vom fettarm ernährten Tier bis zu Fettgaben von 2 g die ausgeschiedene Menge Neutralfett nur zufällige Schwankungen von $\sigma = \pm 14$ mg aufweist. Es ist anzunehmen, daß das Neutralfett als Exkretfett nicht dem Nahrungsfett entstammt. Die freien Fettsäuren im Stuhl entsprechen demnach dem nicht resorbierten Nahrungsfett; die bei fettarmer Kost gefundenen Fettsäuren (6,9% der Ausscheidung) können vernachlässigt werden. Innerhalb der genannten Belastungsgrenzen genügt daher zur Beurteilung der Resorption bei bekannter Fetteinfuhr der Vergleich an ausgeschiedenen Fettsäuren.

Es scheint naheliegend, bei der genannten Konstanz des Exkretfettes nur das Verhältnis der ausgeschiedenen Fettsäuren zu diesem, d. h. den Fettsäure-Neutralfettquotienten zur Beurteilung der Resorption heranzuziehen. Bei guter Homogenisierung des Stuhls wäre dabei nur eine zur Analyse hinreichend große, aber nicht gewichtsmäßig definierte Probe zu entnehmen. Das ist nur bei großen Tierreihen möglich, da die Schwankungen unter Einzeltieren wie oben genannt eine mittlere quadr. Streuung von ± 14 mg aufweisen. Weiter ist noch die Frage zu erörtern, warum das nicht resorbierte Nahrungsneutralfett ausschließlich als freie Fettsäuren bzw. Seifen ausgeschieden wird, wie das auch bei Fetten hohen Schmelzpunktes bei der Ratte gefunden wurde (CROCKETT, DEUEL). FAVARGER c. s., REISER c. s. und früher erhobene Schätzungen stimmen darin überein, daß die Hydrolyse in den resorptionsfähigen Darmabschnitten 40% nicht überschreitet. Die Aufspaltung muß also in den folgenden Darmabschnitten erfolgen. Da der untere Dünndarm und das Colon keine Lipase sezerniert (TOHUKO), kann die Hydrolyse

nur durch mitgeschleppte Pankreaslipase oder Bakterienfermente erfolgen. Die lange Verweildauer gibt genügend Zeit zur Aufspaltung, die durch die Resorption eines Spaltproduktes (Glycerin) im Sinne des Massenwirkungsgesetzes ständig in Richtung Abbau verschoben wird. Das sog. Exkretfett, das vorwiegend aus Neutralfett besteht, muß demnach in den untersten Darmabschnitten ausgeschieden werden.

Für eine zuverlässige Fettbilanz gilt nach unseren Befunden, daß

1. gravimetrische und titrimetrische Methoden ohne Bestimmung des Exkretfettes bei fettarmer Kost wertlos sind,
2. getrennte Bestimmung von freien Fettsäuren und Neutralfett auch unter der Belastung Aufschluß über den Exkretfettanteil gibt, dessen Gehalt an freien Fettsäuren in unseren Versuchen zu vernachlässigen war,
3. die Fettbilanz bei der Ratte aus dem Fettsäure/Neutralfettquotienten aus einer beliebig großen homogenen Stuhlprobe nur bei Kenntnis der mittleren quadratischen Streuung der Neutralfettausscheidung möglich ist.

Zusammenfassung.

Fettbilanzuntersuchungen bei der Ratte mit Olivenöl ergaben, daß die Ratte ohne Anpassung über lange Zeit bis zu 22,5 g Fett/kg Körpergewicht zu tolerieren vermag. Die mittlere Resorptionsgröße war dabei $91 \pm 4\%$. Bei Belastung bis zu 10 g Fett/kg Körpergewicht war die Ausscheidung an Neutralfett innerhalb der statistischen Schwankungen auffallend konstant und mit der fettarm ernährten Tiere übereinstimmend. Die Ausfuhr freier Fettsäuren und Seifen, die bei fettarmer Kost nur $\frac{1}{3}$ des Neutralfetts betrug, stieg bei Fettgabe entsprechend an. Es ist anzunehmen, daß das nicht resorbierte Fett bei der Ratte als Neutralfett ausgeschieden wird. Erst bei Belastung mit extrem hohen Fettmengen (22,5 g/kg) war bei unverändertem Resorptionsumfang eine geringe Zunahme der Neutralfettausscheidung zu beobachten. Die Ursachen der Befunde werden diskutiert und mit Ergebnissen am Menschen verglichen. Aus den Ergebnissen werden Forderungen für eine zuverlässige Fettbilanz bei der Ratte abgeleitet und mögliche Vereinfachungen besprochen.

Der Firma E. Merck A.G., Darmstadt, haben wir für die zur Basis-Diät notwendigen Substanzen, wie Casein, Traubenzucker, Salzgemisch und Vitamine, zu danken.

Literatur.

- BÜRGER, M., u. H. HABBS: Klin. Wschr. **1927**, 2125. — BURR, G. O., and M. M. BURR: J. of Biol. Chem. **82**, 345 (1929). — CREMER, D., u. H. LINGEN: Hoppe-Seylers Z. **295**, 10 (1953). — CROCKETT, M. E., and H. J. DEUEL: J. Nutrit. **33**, 187 (1947). — FAVARGER, P., and R. A. COLLET: Helvet. physiol. Acta **8**, 315 (1949). — FAVARGER, P., R. A. COLLET u. E. CHERBULIEZ: Helvet. chim. Acta **34**, 1641

(1951). — FISCHER, W., u. K. H. KIMBEL: *Z. exper. Med.* **125**, 437 (1955). — FUERTH, O., u. H. WINIBECK: *Biochem. Z.* **237**, 139 (1931). — GROSS, O.: *Dtsch. med. Wschr.* **1909**, 706. — HENNING, N., u. K. HEINKEL: *Z. exper. Med.* **120**, 221 (1953). — *Klin. Wschr.* **1952**, 564. — HEUPKE, W.: *Die Faeces des Menschen*. Dresden 1943. — HILL, M., and W. R. BLOOR: *J. of Biol. Chem.* **53**, 171 (1922). — HOESSLIN, H. v., u. T. KASHIWADO: *Dtsch. Arch. klin. Med.* **105**, 576 (1912). — IRVIN, M. H., H. S. STEENBOCK and V. M. TEMPLIN: *J. Nutrit.* **12**, 85 (1936). — KAMER, J. H. VAN DE, H. TEN BOKKEL-HUININK and H. A. WEYERS: *J. of Biol. Chem.* **177**, 347 (1949). — KRAKOWER, A.: *Amer. J. Physiol.* **107**, 49 (1934). — LEHNARTZ, E.: *Einführung in die chem. Physiol.* Berlin 1949. — LÉPINE: *Zit. n. WENDT.* — LEWIS, G. T., and H. C. PARTIN: *J. Labor. a. Clin. Med.* **44**, 91 (1954). — MÜLLER, F.: *Z. Biol.* **20**, 327 (1884). — REISER, R., M. J. BRYSON and M. J. CARR: *J. of Biol. Chem.* **194**, 131 (1952). — SPERRY, W. M., K. A. KUIKEN and ROBERT W. ANGEVINE: *J. of Biol. Chem.* **96**, 769 (1932). — SPERRY, W. M., and W. R. BLOOR: *Zit. n. HEUPKE.* — TOHUKO, J.: *J. of Exper. Med.* **24**, 329 (1934). — WENDT, H.: *Erg. inn. Med.* **42**, 232 (1932).

Dr. K. H. KIMBEL, Medizinische Universitätsklinik, Erlangen.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. HENNING).

Untersuchungen über enterale Antibiose bei der Ratte.

VI. Mitteilung.

Wirkung auf die Fettresorption.

Von

W. FISCHER und K. H. KIMBEL.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. November 1954.)

In zwei vorausgegangenen Mitteilungen beschrieben wir eine Abflachung der Glucosebelastungskurve nach mehrwöchiger Aureomycin- und Terramycinverfütterung an Ratten. Es konnte im Cori-Versuch gezeigt werden, daß eine korrespondierende Resorptionsminderung für Glucose bestand. Bei Annahme eines ähnlichen Resorptionsmechanismus schien es aufschlußreich, auch die Fettaufnahme zu untersuchen. Hierzu konnten frühere Versuche über die Fettbilanz der Ratte zum Vergleich dienen.

Methodik.

Wie bereits ausführlich beschrieben, wurden etwa 200 g schwere männliche Albinoratten des gleichen Inzuchtstamms mit einer fettarmen Basiskost aus entfettetem Casein, Traubenzucker, allen handelsüblichen Vitaminen und Salzgemisch nach McCOLLUM gefüttert. Sie wurden in 48std. Abständen mit 2 bzw. 4,5 g Olivenölper os belastet und im Stuhl, der über den gleichen Zeitraum gesammelt wurde, Neutralfett und freie Fettsäuren (-Seifen) nach der Methode von VAN DE KAMER, HUININKS und WEYERS bestimmt. Nach einer Vorperiode von 17 Wochen bekamen die Tiere mit der Schlundsonde täglich 25 mg Terramycin bzw. Aureomycin und wurden in der gleichen Weise untersucht. Die Tiere wurden wöchentlich gewogen.

Ergebnisse.

Die Ausscheidung an freien Fettsäuren und Neutralfett fettarm ernährter und fettbelasteter Tiere vor und unter Antibioticabehandlung ist in Abb. 1 dargestellt. Man sieht, daß die mittlere Ausscheidung freier Fettsäuren bei fettarm ernährten Tieren etwa $\frac{1}{4}$ der Gesamtfettausscheidung beträgt und mit durchschnittlich 22,5 mg auffallend konstant ist. Der mittlere Gehalt der Faeces an Neutralfett, der während der ersten 19 Versuchstage infolge der kleinen Tierzahl (8) etwas mehr schwankt

als während des weiteren Versuchsverlaufs (24 bzw. 20 Tiere), bleibt überraschenderweise von allen Änderungen der Versuchsbedingungen unbeeinflusst. Seine mittlere quadratische Streuung ist im statistischen Teil angegeben. Die Fettsäureausscheidung dagegen steigt bei Fettzulage auf Werte von etwa 180 mg an. Die Tiere, die über 17 Wochen 48stündig 2 g Olivenöl bekamen, zeigten im Bereich der Zufallsschwankungen gut übereinstimmende Stuhl-Fettsäurewerte, so daß für die Prüfung der Antibiotica keine weiteren Kontrollen erforderlich waren. Auf 25 mg Aureomycin tgl. p.o. trat bei allen 10 Tieren eine über 3 Tage zu beob-

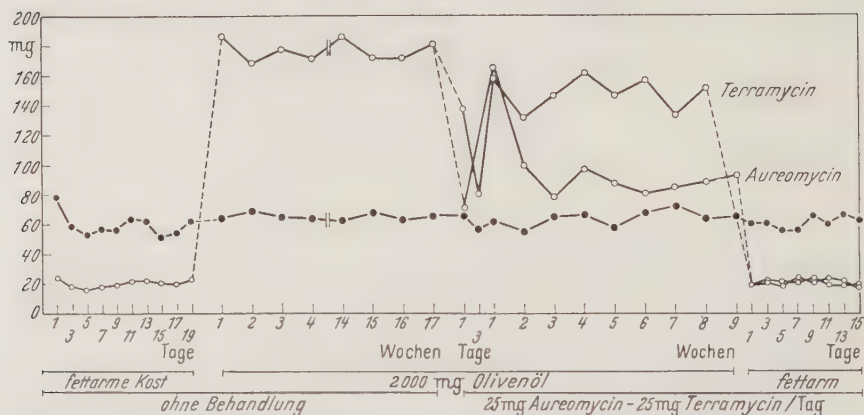


Abb. 1. Ausscheidung von freien Fettsäuren ○ und Neutralfetten ● vor und unter Antibioticabehandlung fettarm ernährter und in 2tägigem Abstand mit 2 g Olivenöl belasteter Ratten.

achtende Abnahme der Fettsäureausscheidung ein, die nach 1 Woche nicht mehr nachzuweisen ist. Im weiteren Verlauf fanden wir eine Woche später erneut einen Rückgang der Stuhlfettsäuren auf durchschnittlich 90 mg, der mit einer Streuung von $\sigma = 135$ mg über 8 Wochen verfolgt werden kann. Setzen wir nun die Fettzufuhr aus, sank in wenigen Tagen die Fettsäureausscheidung auf im Mittel 21 mg ab, was überraschend gut mit den ohne Antibiotica unter gleichen Bedingungen in der Vorperiode gewonnenen Werten übereinstimmt. Auch 25 mg Terramycin täglich p.o. löst am Tage nach Behandlungsbeginn einen steilen Abfall des Fettsäuregehalts im Stuhl aus. Hierbei beobachteten wir allerdings bei allen 10 Tieren einen gleichsinnigen Rückgang des Neutralfetts, wie wir ihn sonst nie gesehen haben. Am Ende der Woche kehrte die Fettsäureausscheidung wie bei Terramycin fast zur Norm zurück, um dann mit einem Mittel von 149 mg gering erniedrigt über 8 Wochen zu verbleiben. Wie bei Aureomycinverfütterung folgt dem Absetzen der Fettgaben sehr rasch die Einstellung auf eine Fettsäureausscheidung von durchschnittlich 21 mg, wie wir sie während der Vorperiode gefunden hatten.

In Abb. 1 sind die Mittelwerte der 24 bzw. je 10 Tiere über den gesamten Versuchsverlauf dargestellt. Da uns bei früheren Versuchen aufgefallen war, daß einige unserer Tiere während des ganzen Versuchs im Mittel erheblich mehr bzw. weniger Fett ausschieden, also eine individuell bessere bzw. schlechtere Fettausnutzung hatten, haben wir in

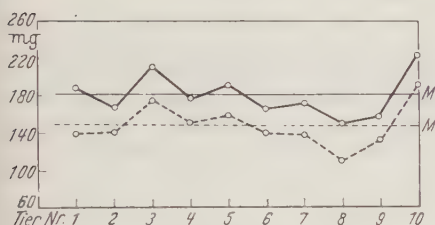


Abb. 2a.

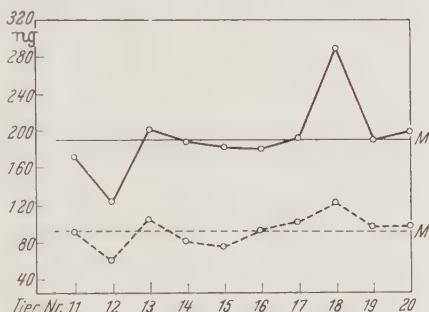


Abb. 2b.

Abb. 2a—b. Mittelwerte der Fettsäureausscheidung der Einzeltiere während der Vorperiode (○—○) und der Behandlung (○---○) mit Terramycin (Abb. 2a) und Aureomycin (Abb. 2b) — bzw. --- Gesamtmitelwerte.

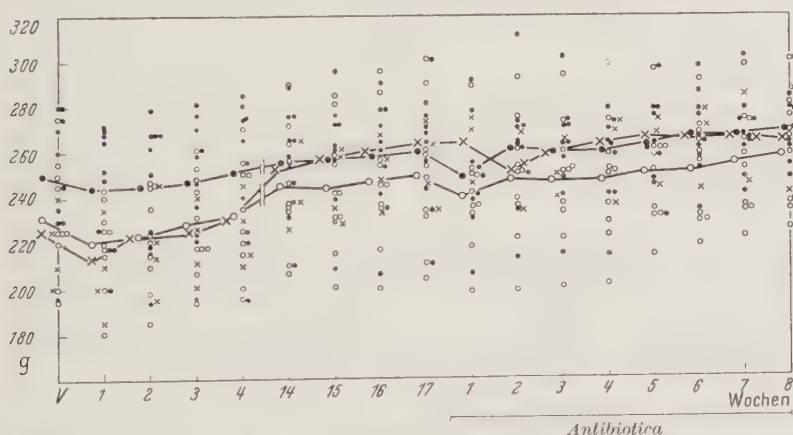


Abb. 3. Einzelgewichte und Gewichtsmittel (verbunden) der Versuchstiere über die gesamte Versuchsdauer ● = Aureomycin, ○ = Terramycin, x = Kontrollen.

Abb. 2 das Mittel der Fettsäureausscheidung der einzelnen unbehandelten Tiere dem während der Aureomycin- bzw. Terramycinbehandlung gegenübergestellt. Man sieht, daß die Abnahme relativ zur individuellen Ausscheidung um etwa den gleichen Betrag erfolgt.

Die hohen Fettgaben während der Versuchsdauer (140 g Olivenöl) ließen eine Gewichtszunahme durch Fettmast erwarten. Wie aber aus den zu Kurvenzügen verbundenen Mittelwerten der Tiergewichte während des Versuchs (Abb. 3) zu ersehen ist, beträgt die Zunahme nur 27 g für die Terramycintiere, für die Aureomycintiere 19 g und für die

Kontrollen 40 g. Da der Gewichtsanstieg der Kontrollen fast ausschließlich während der Vorperiode erfolgte, ist die geringere Gewichtszunahme der behandelten Tiere nicht auf die Antibiose zurückzuführen. Die Umstellung von der Normalkost (Körnerfutter ad libitum) auf die Basisdiät kommt in einem vorübergehenden Gewichtsabfall zum Ausdruck.

Statistische Bewertung der Versuchsergebnisse:

I. Mittelwerte, mittlere quadratische Abweichung und Variabilitätskoeffizienten der Fettsäure- bzw. Neutralfettausscheidung für die einzelnen Versuchsabschnitte.

	Fettsäuren in mg*			Neutralfett in mg*		
	M	σ	V	M	σ	V
Vorperiode						
A. fettarme Kost	20,5	5,5	26,8	61,0	15,0	26,1
Vorperiode						
B. Belastung mit 2 g Olivenöl	178,0	66,3	37,2	65,5	13,0	20,0
Versuch 1						
C. 2 g Olivenöl + 25 mg Terramycin	149,0	50,2	33,6	66,4	14,3	22,0
Versuch 2						
D. 2 g Olivenöl + 25 mg Aureomycin	89,0	35,2	39,1	61,7	13,7	22,0
Versuch 3						
E. fettarme Kost + 25 mg Terramycin	21,0	5,1	24,3	61,8	12,2	20,0
Versuch 4						
F. fettarme Kost + 25 mg Aureomycin	20,7	4,5	22,0	61,0	8,4	14,0

* Berechnet auf ein mittleres Molekulargewicht von 284 für Fettsäuren und von 297 für Neutralfett.

II. Vergleich der Neutralfettausscheidung während der einzelnen Versuchsabschnitte mit dem Kollektiv bei fettarmer Kost.

Differenz der Mittelwerte		3 σ Diff
$M_A - M_B$	4,5	5,83
$M_A - M_C$	5,4	7,00
$M_A - M_D$	0,7	6,45
$M_A - M_E$	0,8	6,94
$M_A - M_F$	0,0	6,01

Die Differenz der Mittelwerte ist in jedem Fall kleiner als deren dreifacher Fehler. Es handelt sich somit um 6 statistische Gesamtheiten mit gleichem Mittelwert und gleicher Streuung.

III. Vergleich der Kollektive der mit 2 g Olivenöl belasteten und mit Terramycin bzw. Aureomycin behandelten Tiere mit dem der unbehandelten, ebenfalls mit 2 g Olivenöl belasteten Tiere hinsichtlich der Ausscheidung an Fettsäuren.

	Differenz der Mittelwerte	$3 \sigma_{\text{Diff}}$
$M_B - M_C$	29,0	24,75
$M_B - M_D$	89,0	24,12

Es handelt sich in beiden Vergleichen um Kollektive mit verschiedenem Mittelwert und verschiedener Streuung.

IV. Vergleich der Fettsäureausscheidung des Einzeltieres vor und während der Behandlung mit Terramycin bzw. Aureomycin (vgl. Abb. 2).

Tier	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$M_B - M_C$	48	28	40	27	33	28	31	39	25	26
$3,6 \sigma_{\text{Diff}}$	146	96	121	74	104	70	100	47	100	176

Tier	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
$M_B - M_D$	81	64	97	107	106	88	90	166	94	102
$3,6 \sigma_{\text{Diff}}$	67	45	75	78	68	62	51	140	76	73

Der Unterschied in der Fettsäureausscheidung vor und während der Behandlung für das Einzeltier ist bei Behandlung mit Terramycin für kein Tier, mit Aureomycin für sämtliche Versuchstiere signifikant.

V. Vergleich der Fettsäureausscheidung des unbehandelten Kollektivs mit den Gesamtheiten der mit Terramycin bzw. Aureomycin behandelten Tiere bei fettarmer Kost.

	Differenz der Mittelwerte	$3,09 \sigma_{\text{Diff}}$
$M_A - M_E$	0,50	0,89
$M_A - M_F$	0,20	0,73

Die Differenz der Mittelwerte liegt innerhalb der zufälligen Schwankung. Es handelt sich um drei Gesamtheiten mit gleichen Mittelwerten und gleicher Streuung.

Diskussion.

Die getrennte Bestimmung von Fettsäuren und Neutralfett in den Faeces der Ratte nach fettarmer Kost und Fettbelastung ergab, daß die Ausscheidung an Neutralfett von der Fettzufuhr unabhängig ist. Es wird angenommen, daß es sich nicht um der Resorption entgangenes Fett handelt. Wie aus Abb. 1 und der statistischen Bewertung (II) hervorgeht, bleibt auch die Verfütterung von täglich 25 mg Aureomycin bzw. Terramycin ohne Einfluß auf den Gehalt der Faeces an Neutralfett,

unabhängig davon, ob die Tiere fettarm ernährt oder Olivenöl bekamen. Da aus früheren Berichten bekannt war, daß die Darmflora der Ratte schon 24 Std nach der ersten Antibioticagabe erheblich dezimiert und fast ausschließlich aus *B. proteus* und vereinzelt atypischen Coli-stämmen besteht, sind Bakterienlipotide als Quelle des Stuhlneutralfettes auszuschließen. Auch der Stickstoffgehalt der Faeces beim extrem fettarm Ernährten (LEWIS u. PARTIN) ist von der Stuhlfettmenge unabhängig. Schließlich reicht auch nach SPERRY der Lipidgehalt der Darmmucosa nicht aus, die Fettausscheidung bei praktisch fettfreier Kost zu erklären. Man muß eine Exkretion von Blutfett annehmen, die dann vom Blutfettspiegel beeinflußt werden müßte. Die genannten Feststellungen gestatten unter den gegebenen Versuchsbedingungen, die Fettbilanz unter Antibiose an der Fettsäureausscheidung zu verfolgen.

Man sieht in Abb. 1, daß die Olivenölbelastung einen Anstieg der Fettsäureausscheidung von 20,5 mg auf 178 mg im Mittel hervorruft. Diese Erhöhung war im Bereich der Zufallsschwankungen über 17 Wochen konstant zu beobachten. Die Verfütterung von täglich 25 mg Terramycin bzw. Aureomycin führt zunächst (nach 1 bzw. 4 Tagen) zu einem starken Abfall der Fettsäurefraktion der Faeces, die auch von einer Abnahme des Neutralfettes begleitet ist, wie wir sie sonst nicht beobachten konnten. Wir nehmen deshalb an, daß durch Verlangsamung der Passagezeit ein Teil des Fettes der Analyse entgangen ist. Bei Terramycin findet sich nach 1 Woche, bei Aureomycin nach 2 Wochen eine Erniedrigung der Fettsäureausscheidung auf durchschnittlich 149 bzw. 89 mg, nachdem am Ende der ersten Woche ein Rückgang bis nahe zur Norm eingetreten war. Eine ähnliche vorübergehende Normalisierung hatten wir früher — allerdings im umgekehrten Sinne — bei der Glucosebelastungskurve der Ratte beobachtet. Die Abnahme der Fettsäureausscheidung bleibt, für beide Antibiotica verschieden, über 8 Wochen bestehen. Diese Abnahme ist nicht durch Reduktion des Exkretfettanteils zu erklären, weil Neutralfett- und Fettsäuregehalt der Faeces nach Übergang auf fettarme Kost auf die gleichen Werte der Vorperiode zurückgehen (vgl. Erg. V). Wir hatten nach den Ergebnissen der Resorptionsversuche mit Kohlenhydraten auch eine Verschlechterung der Fettbilanz erwartet. FRAZER hat allerdings beobachtet, daß die Fettresorption bei der tropischen Sprue nach einer 10tägigen Behandlung mit verschiedenen Antibiotica von im Mittel 70% auf 87% zunahm, also fast normalisiert wurde. Wenn auch der kurative Mechanismus nicht zu übersehen ist, so spricht doch die alternative Verwendung verschiedener Präparate mehr für eine Beeinflussung über die Darmflora als für eine pharmakologische Beeinflussung; eine negative Beeinflussung der Resorption ist aber auch auf dem letzteren Weg ausgeschlossen. Auch FALON konnte bei Leberkranken und Gesunden nach 4–8tägiger Terramycin- bzw. Aureomycinbehandlung

keine Änderung im Gesamtfettgehalt des Stuhls bei 57,7—100 g Fett täglich finden. Seine Versuchsbedingungen weichen allerdings in der Größe der Fettbelastung wie auch in der ausschließlichen Bestimmung des Gesamtfettes von den unseren ab. Zudem sind zur sicheren Abgrenzung von Exkretfett und der Nahrung entstammendem Fett beim Menschen höhere Belastungsdosen notwendig. Unsere Anschauungen über eine Verbesserung der Resorption durch Alteration der Bakterienflora müssen spekulativ sein und gehören nicht hierher, zudem bekannt ist, daß B₂, Nikotinsäureamid, Folsäure, Biotin und Pyridoxyn-Mangel die Fettresorption der Ratte nicht beeinflußt (BLACK, BOUND, FOURMAN, WOODRUFF). Eine vermehrte Fettverbrennung durch die atypische Darmflora ist unwahrscheinlich. Zu einer mechanistischen Deutung veranlaßten uns die Arbeiten von MAHLER über die Paprikaentzündung des Rattendarms, bei der im Gegensatz zur Kohlenhydratresorption die Fettresorption zunehmend gesteigert wurde. Wenn auch zur Resorption nur eine hydrolytische Aufspaltung der Fette von etwa 40% notwendig ist (FAVARGER und REISER), war an eine Beeinflussung der Lipaseaktivität durch die Antibiotika zu denken. JACOBSON und AZEVEDO fanden mit der stalagmometrischen Methode eine Aktivierung der Kaninchen-serumlipase mit Tributyrin als Substrat durch Aureomycin, Terramycin und Erythromycin (Konzentration 5 g/‰). Eine partielle Resorptionsverbesserung wäre auf diesem Wege denkbar. Die Oberflächenaktivität der reinen Antibiotica reicht nicht aus, diese weiter resorptionsfördernd zu machen. Unsere Befunde unterstreichen die zunehmend vertretene Ansicht, daß der Resorption von Fett und Kohlenhydrat verschiedene Mechanismen zugrunde liegen.

Zusammenfassung.

In Analogie zu Kohlenhydratresorptionsversuchen durchgeführte Fettbilanzuntersuchungen an der Ratte bei fettarmer Kost bzw. jeden 2. Tag erfolgter Belastung mit 2 g Olivenöl ergaben, daß die tägliche Verfüterung von 25 mg Aureomycin die Ausscheidung freier Fettsäuren signifikant senkt, Terramycin senkt unter den gleichen Bedingungen die Ausscheidung freier Fettsäuren am Kollektiv betrachtet signifikant, für das Einzeltier kann diese Abnahme aber statistisch nicht gesichert werden. Der Abfall war bei Aureomycin stärker als bei Terramycin. Die früher beschriebene Unabhängigkeit der Neutralfettausscheidung wird auch unter Antibiose gefunden und letzteres als Exkretfett angesehen. Als Ursache der verbesserten Resorption werden die von anderer Seite gefundene Lipaseaktivierung, die Erhöhung der Fettdurchlässigkeit der Darmwand bei experimenteller Entzündung und oberflächenaktive Eigenschaften des Antibiotikums diskutiert. Eine Vitaminwirkung kann nach den Erfahrungen der Literatur ausgeschlossen werden.

Literatur.

- BLACK, D. A. K., J. P. BOUND and L. P. R. FOURMAN: Quart. J. Med. **16**, 99 (1947). — FALON, W. W.: J. Labor. a. Clin. Med. **44**, 75 (1954). — FAVARGER, P., u. R. A. COLLET: Helvet. physiol. Acta **8**, 15 (1949). — FAVARGER, P., R. A. COLLET u. E. CHERBULIEZ: Helvet. chim. Acta **34**, 1641 (1951). — FISCHER, W., u. K. H. KIMBEL: Z. exper. Med. **125**, 426 (1955). — FRAZER, A. C., M. C. ANDERSON, J. M. FRENCH, C. F. HAWKINS, C. A. C. ROSS u. H. G. SAMMONS: Gastroenterologia (Basel) **81**, 98 (1954). — JACOBSON, K. P., and DE M. D. ACEVEDO: Exp. Med. a. Surg. **11**, 149 (1953). — KAMER, J. H. VAN DE, H. TEN BOKKEL-HUININK, and H. A. WEYERS: J. of Biol. Chem. **177**, 347 (1949). — KIMBEL, K. H.: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 59. Kongr. 1953. — KIMBEL, K. H., E. HEISE u. H. KÖNIG: Z. exper. Med. **122**, 265 (1954). — KIMBEL, K. H., H. BÜNTE, E. HEISE u. W. FISCHER: Z. exper. Med. **124**, 342 (1954). — LEWIS, G. T., and H. C. PARTIN: J. Labor. a. Clin. Med. **44**, 91 (1954). — MAHLER, PH.: Z. exper. Med. **85**, 112 (1932). — MAHLER, PH., W. NONNENBRUCH u. J. WEISER: Z. exper. Med. **85**, 82 (1932). — REISER, R., M. J. BRYSON and K. A. KUIKEN: J. of Biol. Chem. **194**, 131 (1952). — SPERRY, W. M.: J. of Biol. Chem. **96**, 759 (1932). — WOODRUFF, A. W.: Brit. J. Exp. Path. **31**, 405 (1950); **33**, 415 (1952).

Dr. K. H. KIMBEL, Medizinische Universitätsklinik, Erlangen.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. N. HENNING).

Untersuchungen über enterale Antibiose bei der Ratte.

VII. Mitteilung.

Resorption von Vitamin A.

Von

K. H. KIMBEL, W. FISCHER und H. BÜNTE.

(Eingegangen am 21. März 1955.)

Die Berichte über Vitaminmangelzustände bei Patient und Versuchstier nach längerer Behandlung mit Tetracyclinen führten dazu, neben dem Antibioticum ausreichend Vitamine zu geben. Dazu ist es wichtig zu wissen, ob man mit oralen Gaben auskommt oder ob man wegen eingeschränkter Resorption zu parenteraler Verabreichung gezwungen ist. Da die Vitamine des B-Komplex auch auf letztgenanntem Wege zur Wirkung kommen. Vitamin A aber nach intramuskulärer Injektion kaum resorbiert und intravenös nicht verabreicht werden kann, untersuchten wir an der 5 Wochen lang mit 25 mg Aureomycin p. o. behandelten Ratte die Resorption ölicher und wasserdispersibler synthetischer Vitamin A-Präparate.

Methodik.

Von 56 etwa 200 g schweren Albinoratten, die mit vollwertigem Körnerfutter und Wasser ad libitum gefüttert waren, wurden 16 5 Wochen lang mit tgl. 25 mg Aureomycin behandelt, das ihnen, in 2 ml Wasser aufgeschwemmt, mit der Schlundsonde eingegeben wurde. Der Rest der Tiere diente als Kontrolle. Am Tage vor dem Versuch wurde das Futter abgesetzt und die Tiere in Käfige mit doppeltem Maschenrost gebracht, in denen sie nicht koprophagieren konnten. Wasser wurde ihnen belassen. Am Versuchstag wurden um 9 Uhr 4000 IE des jeweiligen Vitaminpräparates mit der Schlundsonde in den Magen injiziert. Nach 4½ Std wurden die Tiere durch Genickschlag getötet und die Bauchhöhle eröffnet. Der gesamte Magen-Darm-Kanal wurde nun in situ mit 100 ml Petroläther p. a. (Sp. 40—60°) durchgespült. Bei einem Teil der Kontrollen wurde dagegen der Darm mit 2 · 50 ml Petroläther im „Starmix“ homogenisiert. Spülflüssigkeit wie Homogenat wurden durch ein weiches Faltenfilter gegeben und wie bei der in gleicher Weise homogenisierten Leber im Vakuum bei 45 Torr und 45°C zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wurde in 2 ml Chloroform aufgenommen und auf ein zur Messung geeignetes Volumen mit Chloroform verdünnt. Die Bestimmung des Gehalts an freiem bzw. niedermolekular verestertem Vitamin A erfolgte ohne vorherige Hydrolyse mit der Carr-Price-Reaktion in einer früher beschriebenen Modifikation (KIMBEL u. WIGGER). Zur Prüfung der angewandten Methodik wurden folgende Vorversuche gemacht:

1. Prüfung des Darminhaltes einer 48 Std nüchtern gehaltenen Ratte auf den Vitamin A-Gehalt.

2. Ein Tier wurde 30 min nach Gabe von 4000 IE Vitamin A als Mischglycerid-präparat getötet und die im Darm vorhandene Vitamin A-Menge extrahiert.

3. Die einzelnen Teile des Magen-Darm-Kanals (Magen, Dünndarm und Dickdarm) wurden 4 Std nach Vitamin A-Gabe (4000 IE Mischglyceridpräparat) getrennt untersucht.

Tabelle 1. *Alle Angaben in IE (1 IE = $\sim 0,3 \gamma$ Vitamin A-Alkohol).*

Wasserdispersibles Präparat				In Mischglycerid gelöstes Vitamin A		
Kontrollen		mit Aureomycin beh. Tiere		Kontrollen**	mit Aureomycin beh. Tiere	
Darminhalt	Leber	Darminhalt	Leber	Darminhalt	Darminhalt	Leber
100		117	152	2800	860	105
110		110	145	2100	905	35
110		115	145	2200	755	105
150		95	250	2350	780	32
120		123	350	1720	870	36
170	220	45	205	2900	675	165
225	320	204		3400	965	29
90	250			2400	1390	29
210	190			3200		
52	205			2350		
28	56			2725		
85	375			2550		
80	245			2310		
38	400			2740		
38	425			1940		
40	250			2280		
(470*)				2180		
(220)						
(350)						
(240)						
(210)						
(720)						
(305)						

* Einklammerte Werte = Darmwand + Inhalt homogenisiert.

** Bei den Kontrollen wurde die Leber nicht untersucht.

Ergebnisse.

Die Vorversuche zur Sicherung der Methodik ergaben, daß die im Darm eines nüchternen Tieres gefundenen Carr-Price-positiven Substanzen unter 20 IE lagen. 30 min nach Eingabe von 4000 IE Vitamin A fanden sich 90% (3500 IE) im Darm wieder, während nach 4 Std die Hauptmenge im Colon, 2700 IE, der Rest im Dünndarm nachzuweisen war; der Mageninhalt enthielt zu dieser Zeit praktisch kein Vitamin A mehr. Die Ergebnisse der Resorptionsversuche mit antibiotisch behandelten und unbehandelten Tieren sind in der Tabelle 1 dargestellt. Zuerst fällt auf, daß das im Darminhalt gefundene, nicht resorbierte Vitamin A beim Mischglycerid-Präparat mehr als 10mal höher ist, als bei den mit

dem wasserdispersiblen Präparat behandelten Tieren. Die vermehrte Aufnahme geht ferner, wenn auch nicht proportional, aus dem Vitamin-Gehalt der Leber hervor. Bei dem wasserdispersiblen Präparat waren keine Unterschiede zwischen normalen und aureomycinbehandelten Tieren, wohl aber bei dem Mischglycerid-Präparat, bei dem etwa doppelt soviel resorbiert wurde. Das Ergebnis war statistisch zu sichern (Tab. 2).

Diskussion.

Wie nach der Resorptionsverbesserung für Olivenöl bei längerer Zeit mit Aureomycin bzw. Terramycin behandelten Ratten zu erwarten war, wird auch die Aufnahme ölicher Vitamin A-Lösungen durch Chlortetracyclin verbessert. Ob das auch für wasserdispersible Lösungen gilt, ist durch unsere Versuche nicht sicher zu entscheiden, da die gegebene Menge auch bei unbehandelten Tieren fast vollständig resorbiert wird. Im Vergleich zu der Steigerung der Aufnahme von Olivenöl ist die Zunahme der Vitamin A-Resorption erheblich, was daraufschließen läßt, daß sich die Resorptionszunahme nicht nur auf das Vehikel bezieht. Wir glauben nicht, daß die vermehrte Aufnahme durch einen latenten Mangelzustand bedingt war, es waren keine Zeichen eines Vitamin A-Defizits bei den Ratten zu beobachten. Daß der Vitamin A-Gehalt der Lebern bei fast vollständiger Resorption nicht höher anstieg, scheint an der verwendeten

Tabelle 2. *Alle Angaben in IE.*

Wasserdispersibles Präparat				In Mischglycerid gelöstes Vitamin A			
Kontrollen		mit Aureomycin beh. Tiere		Kontrollen		mit Aureomycin beh. Tiere	
Darminhalt	Leber	Darminhalt	Leber	Darminhalt	Leber	Darminhalt	Leber
Σ	1646	809	1247	Σ	42145	7200	536
M	102	115	204	M	2479	900	67
σ^2	3001	2211	6619	σ^2	191700	102414	2655
						Leber	
	M_{diff}			M_{diff}			
	σ_{diff}			σ_{diff}			
	$M_{\text{diff}}/\sigma_{\text{diff}}$			$M_{\text{diff}}/\sigma_{\text{diff}}$			
		Leber				Darm	
		13				1579	
		23,72				173	
		0,55				9,05	
		1,26					

Bestimmungsmethode zu liegen, die höhermolekular verestertes Vitamin A nicht erfaßt. Man darf dabei nicht vergessen, daß nach KNUDSON u. ROTHMAN das Vitamin A nach Abspaltung durch eine sogenannte „hepatic esterase“ als Vitamin A-Alkohol an wasserlösliches Cytoplasmaeiweiß gebunden vorliegen kann, unserer Analyse also nicht entgangen sein könnte. Wir sind dabei, die Speicherform des Vitamin A in der Leber näher zu charakterisieren. Es ist aber auch kaum möglich, daß die nicht wiedergefundenen etwa 90% im Blute kreisen, da der Vitamin A-Spiegel der Ratte sich nach unseren Untersuchungen von dem des Menschen nicht wesentlich unterscheidet. Auf jeden Fall wurde in den Lebern der mit dem wasserdispersiblen Präparat und Aureomycin behandelten Tiere etwa das Dreifache an Vitamin A gegenüber entsprechenden, mit dem Mischglycerid-Präparat gefütterten Vergleichs gefunden. Das entspricht den von SOBEL c. s. erhobenen Befunden an unbehandelten, jungen Ratten; für den Anstieg des Blutspiegels ist die Überlegenheit wasserdispersibler Präparate schon lange bekannt (VOLK u. POPPER, FOX, KRAMER c. s., LEWIS c. s., POPPER c. s., SOBEL c. s.).

Zusammenfassung.

Die Resorption von Vitamin A in ölicher Lösung wird, am Rückstand im Darm und am Lebergehalt gemessen, durch längere tägliche Gabe von 25 mg Chlortetracyclin bei der Ratte signifikant verbessert. Die Aufnahme wasserdispersierbarer Präparate ist schon beim unbehandelten Tier bei der angewandten Dosis (4000 IE) fast vollständig, so daß keine Verbesserung zu beobachten war. Die Beobachtung ist nur teilweise durch die früher beschriebene Zunahme der Fettaufnahme zu erklären; es muß auch die Resorption des Vitamins als solchem beeinflusst werden. Vitamin A-Mangelscheinungen traten bei den Tieren unter der antibiotischen Behandlung nicht auf.

Der Deutschen Hoffmann-La Roche AG, Grenzach (Baden), sind wir für die Überlassung der Vitamin A-Präparate zu Dank verpflichtet.

Literatur.

FISCHER, W., u. K. H. KIMBEL: *Z. exper. Med.* **125**, 437 (1955). — FOX, H. J.: *J. Labor. a. Clin. Med.* **34**, 1140 (1949). — KIMBEL, K. H., u. M. WIGGER: *Arzneimittel-Forsch.* **4**, 703 (1954). — KNUDSON, A. G., and P. E. ROTHMAN: *Amer. J. Dis. Childr.* **85**, 316 (1953). — KRAMER, B., A. E. SOBEL and S. B. GOTTFRIED: *Amer. J. Dis. Childr.* **73**, 543 (1947). — LEWIS, J. M., O. BODANSKY, J. BIRMINGHAM and S. Q. COHLAN: *J. Pediatr. (Am.)* **31**, 496 (1947). — POPPER, H., F. STEIGMAN and S. J. ZIVIN: *J. Clin. Invest.* **22**, 775 (1943). — POPPER, H., F. STEIGMAN and H. A. DYNIEWICZ: *Gastroenterology* **10**, 987 (1948). — SOBEL, A. E., M. SHERMAN, J. LICHTBLAU, S. SNOW and B. KRAMER: *J. Nutrit.* **35**, 355 (1948). — SOBEL, A. E., A. ROSENBERG and B. KRAMER: *Amer. J. Dis. Childr.* **80**, 932 (1950). — VOLK, B. W., and H. POPPER: *Gastroenterology* **14**, 549 (1950).

Dr. K. H. KIMBEL,

Klinisch-Chemisches Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik,
Erlangen, Krankenhausstraße 6.

Druck von J. P. Peter, Gebr. Holstein, Rothenburg o. Tbr.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. HENNING)

Untersuchungen über enterale Antibiose bei der Ratte

VIII. Mitteilung

Der Einfluß von Tetracyclingenaben auf die Magen-Darm-Passage

Von

K. H. KIMBEL, W. FISCHER, H. BÜNTE und W. FRIK

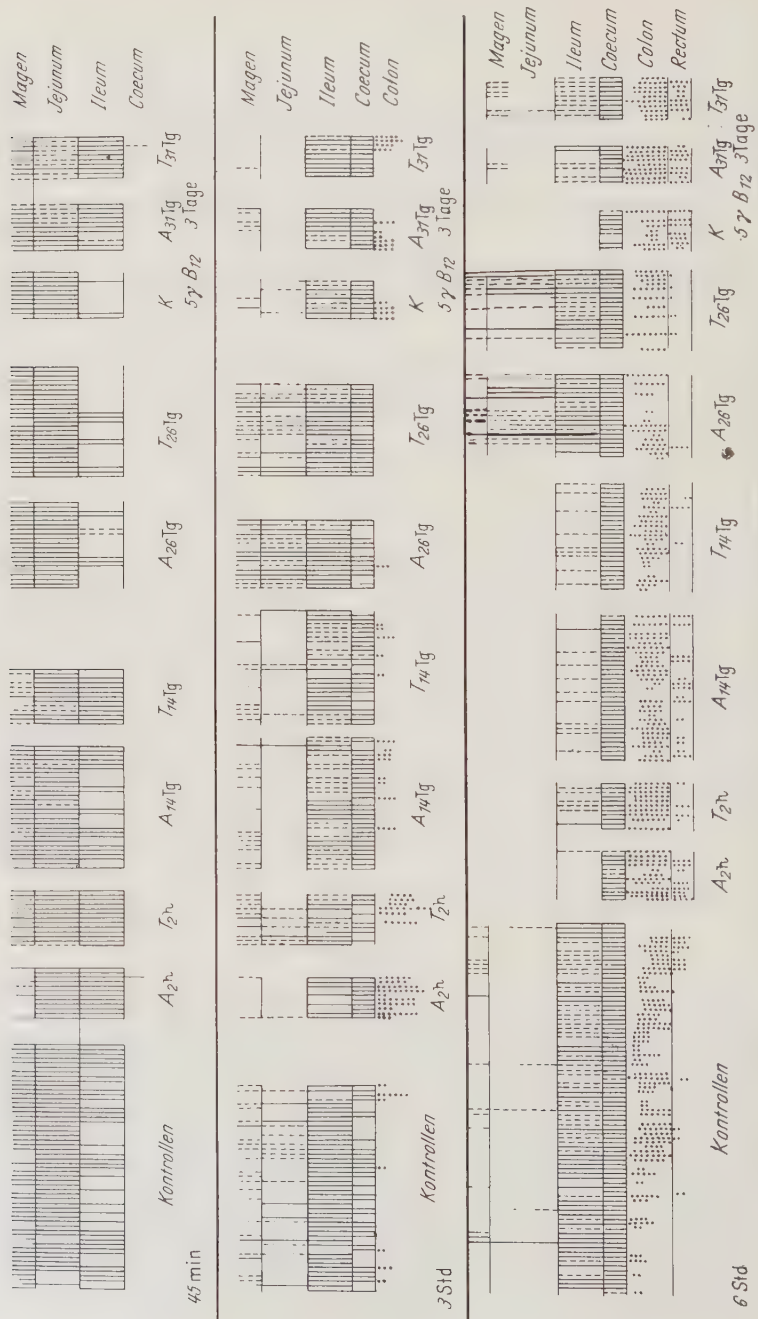
Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. April 1955)

Bei den Untersuchungen über die Resorption im antibiotisch veränderten Darm der Ratte fanden wir eine Abflachung der Glucosebelastungskurve, einen erhöhten Glucoserest im Darm beim Cori-Versuch und eine Verbesserung der Fett-, Vitamin A- und Eisen(II)-resorption. Auffallend war, daß diese Veränderungen in allen Versuchen im Verlauf der dritten Woche nach Beginn der Antibiose auftraten, während die Verhältnisse in der vorausgegangenen Zeit bei einem Teil der Versuche entgegengesetzt lagen. Das sprach weniger für eine Beeinflussung der einzelnen Resorptionsmechanismen, sondern ließ eine Veränderung der allgemeinen Resorptionsbedingungen vermuten. Wir prüften deshalb die Kontrastmittelpassage im Magen-Darm-Kanal bei unbehandelten und verschieden lange Zeit mit Tetracyclinen gefütterten Ratten mit und ohne Einwirkung von Vitamin B₁₂.

Methodik

150–200 g schwere männliche Albinoratten erhielten über längere Zeit vollwertiges Körnermischfutter mit Zusätzen und Wasser ad libitum. Nachdem die Schwankungsbreite der normalen Magen-Darm-Passage-Zeit an unserem gesamten Versuchskollektiv nach der unten beschriebenen Methode bestimmt worden war, injizierten wir je 25 Tieren täglich 25 mg Terramycin oder Aureomycin in wäßriger Aufschwemmung in den Magen. Das Vitamin B₁₂ als Cytobion „Merek“ wurde in einer Dosis von 5 γ über 3 Tage intraperitoneal injiziert. Die Tiere wurden 48 Std vor der Röntgenuntersuchung nüchtern gehalten und erhielten 24 Std vorher die letzte Gabe des Antibioticums. Sie befanden sich in Käfigen mit weitmäschigen Drahtrosten, welche das Fressen der kontrastmittelhaltigen Faeces verhinderten. Wir injizierten den Tieren am Morgen des Versuchstages 2 ml Neobar „Merek“-Aufschwemmung langsam mit der Schlundsonde in den Magen. Das Kontrastmittel trat dabei nicht ins Duodenum über. In Vorversuchen hatten wir beobachtet, daß sich bei unbehandelten Tieren die Spitze der Kontrastmittelsäule nach 45 min, 3, 6, 8 und 24 Std bei geringer Streuung an gut erfaßbaren Stellen des Magen-



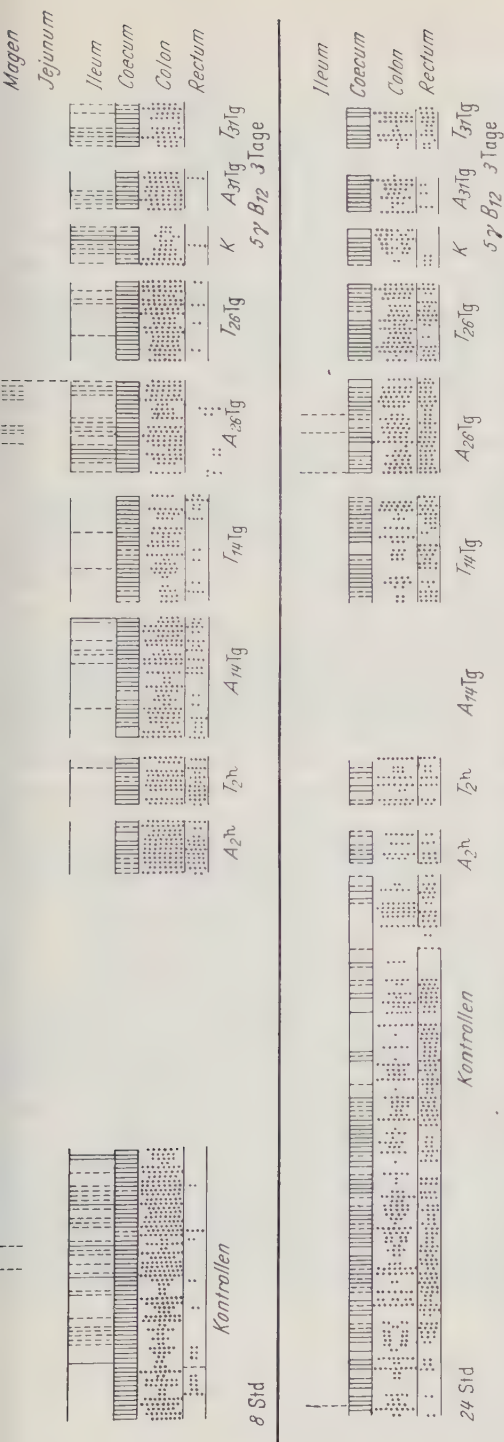


Abb. 1. Füllungszustände der einzelnen Darmabschnitte mit Bariumsulfat nach 45 min, 3, 6, 8 und 24 Std vor und unter Behandlung mit Aureomycin (A) und Terramycin (T) sowie Vitamin B₁₂. Gefüllte Darmabschnitte sind durch ausgezogene Linien (—), die noch einen Wandbeschlag enthaltenden gestrichelt (- - - - -), geförnte Faeces im Colon als Punkte (· · · · ·) dargestellt. Die Füllungszustände zu den genannten Zeiten stehen für alle Tiergruppen in einer Zeile; der Verlauf der Passage ist von oben nach unten abzulesen

darmtraktes befindet. Die Passagezeit wurde nun durch Schirmbildaufnahmen des Abdomens zu dieser Zeit festgelegt. Wir verwendeten ein kleines transportables Röntgengerät, das wir der Nürnberger Geschäftsstelle der Siemens-Reiniger-Werke verdanken. Die Aufnahmen wurden mit einer Kleinbildkamera (Praktika: 24 × 36; Schlitzverschluß, Tessar 1:3,5; f = 5 cm, mit einem Zwischenring) auf einem Schirmbildfilm (Agfa „Fluorapid“) gemacht; der Abstand vom Objekt betrug 40 cm, die Blende war offen (3,5), als optimale Belichtungszeit fanden wir 4 sec. Die Tiere wurden fest auf ein im rechten Winkel zum Tubus stehendes Brett aufgeschallt, so daß sie während der Belichtung ruhig hielten und die Aufnahmen gut zu beurteilen waren. Zur Auswertung der Bilder verwendeten wir den Prado 150-Projektor von Leitz mit Betrachtungskasten. Die direkte Wirkung einer 120 mg-% Aureomycin enthaltenden Ringerlösung bei 37°C auf den isolierten unaufgeschnittenen Rattendarm wurde nach der Methode von MAGNUS geprüft. Die Kontraktionen der Muscularis wurden mit einem langsam laufenden Kymographion (1 Umdrehung ~ 1 Std) auf berußtes Papier geschrieben.

Ergebnisse

In Abb. 1 sind die Passagezeiten aller untersuchten Tiere zusammengefaßt. Die mit Bariumsulfat gefüllten

Darmabschnitte sind durch ausgezogene Linien, die noch einen Wandbeschlag enthaltenden gestrichelt, geformte Faeces im Colon als Punkte dargestellt. Die Unterscheidung zwischen Jejunum und Ileum ist bei der Ratte schwierig, sie konnte jedoch in den meisten Fällen getroffen werden. Im Dünndarm erscheint das Kontrastmittel als ununterbrochene Säule, der zurückbleibende Wandbeschlag ist diskontinuierlich und läßt auf den Schirmbildaufnahmen kein Schleimhautrelief erkennen. Das Kontrastmittel bleibt im verhältnismäßig großen Coecum der Ratte mehrere Stunden liegen, wobei Wasser zurückresorbiert wird. Die konsistenteren Anteile werden dann schubweise durch die Kontraktionen der kräftig entwickelten fischgrätenartig angeordneten Muscularisfasern des beginnenden Colon in den Dickdarm geschoben und dabei geformt. Da das Colon der Ratte nur in einem kurzen aufsteigenden und einem längeren absteigenden Schenkel verläuft, kann nicht in Colon ascendens, transversum und descendens unterschieden werden.

Zur besseren Übersicht sind die Füllungszustände zu den genannten Zeiten (45 min, 3, 6, 8 und 24 Std) für alle Tiergruppen in der gleichen Zeile dargestellt, so daß der Ablauf der Passage von oben nach unten abzulesen ist. Im akuten Versuch wurde 10 Tieren 2 Std vor Beginn der Untersuchung eine einmalige orale Gabe von 25 mg Oxytetracyclin oder Chlortetracyclin verabreicht. Die Passagezeit besonders der oberen Darmabschnitte wurde dadurch verkürzt. Das Aureomycin scheint stärker als das Terramycin zu wirken.

Nach 14 tägiger Antibiose findet man eine weitgehende Normalisierung der Passagezeit; eine geringfügige Verkürzung kann noch in Jejunum und Ileum beobachtet werden.

Völlig veränderte Verhältnisse finden sich nach 26 tägiger Verfütterung der beiden Tetracyclinderivate: 45 min nach Gabe des Röntgenbreyes ist die Magenfüllung gleichmäßig und vollständig; das Organ erscheint auffallend groß (Abb. 2a). Nur wenige Dünndarmschlingen sind gefüllt, das Ileum ist in den meisten Fällen frei. Auch nach 3 Std beobachtet man im Gegensatz zu den vorausgegangenen Versuchen noch eine gute Füllung des Magens und der oberen Dünndarmabschnitte. Bei den mit Aureomycin behandelten Tieren ist der gleiche Befund, wenn auch in abnehmendem Maße, nach 6 Std noch nachweisbar, in einzelnen Fällen sogar noch nach 8 Std. Die Passage durch Coecum und Colon ist im Vergleich mit den Kontrollen unverändert. Die durch Aureomycin bedingten Veränderungen sind auch nach 26 tägiger Verfütterung der Antibiotika deutlicher als die des Terramycins.

6 Tage später finden wir nach 3 tägiger B₁₂-Behandlung wieder völlig normale Passageverhältnisse. Bei den nur mit Vitamin B₁₂ behandelten Kontrollen ist die Passagezeit mäßig verkürzt (Abb. 2b).

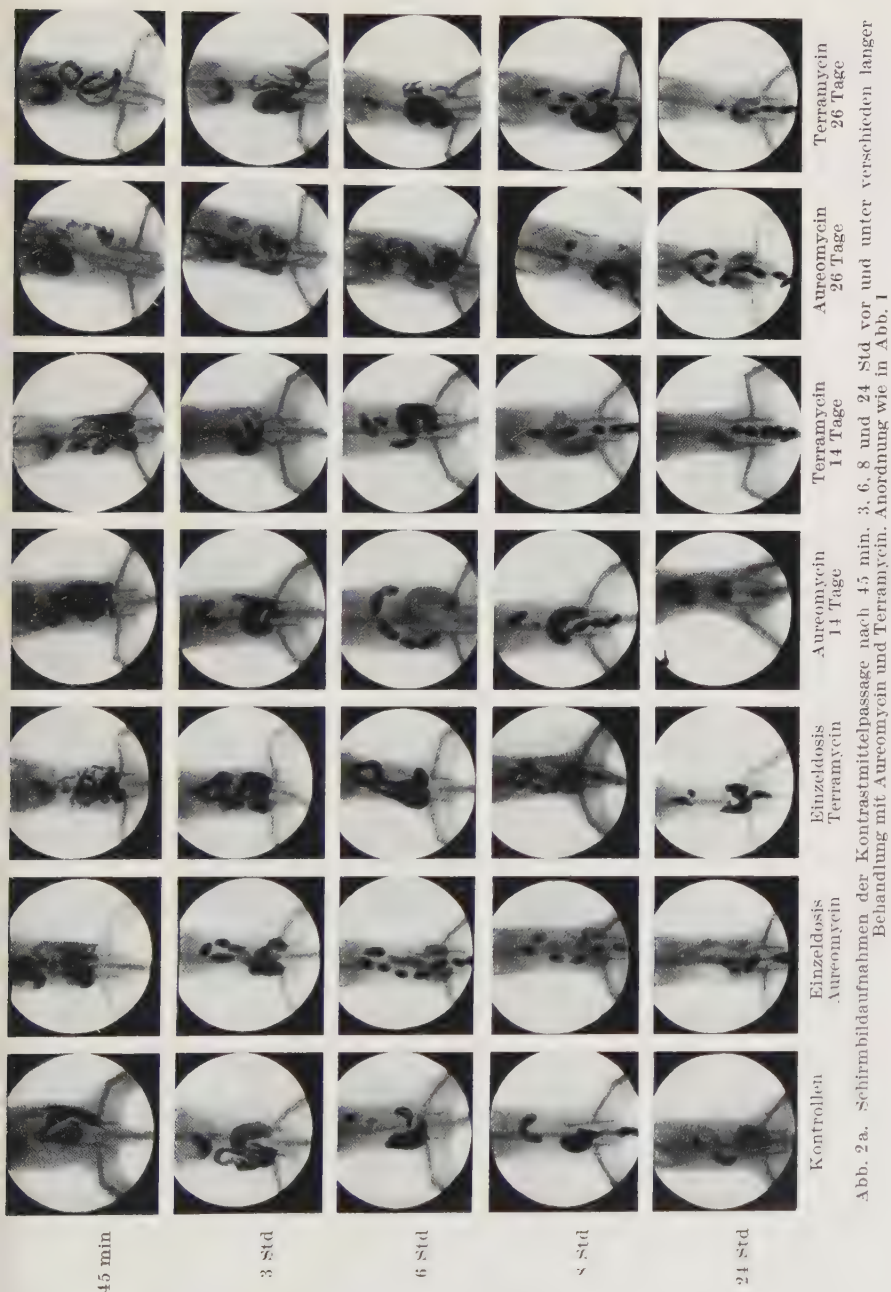
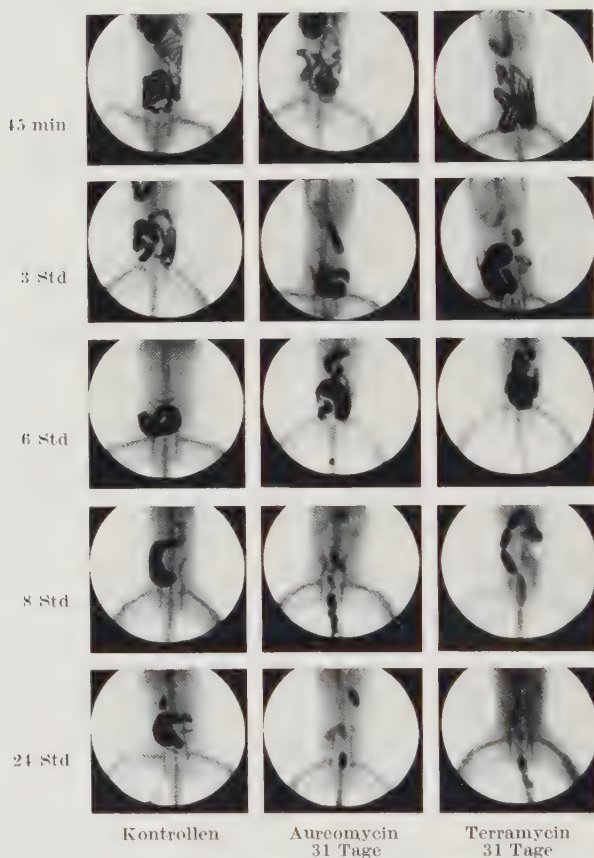


Abb. 2a. Schirmbildaufnahmen der Kontrastmittelpassage nach 45 min, 3, 6, 8 und 24 Std vor und unter verschiedenen langer Behandlung mit Aureomycin und Terramycin. Anordnung wie in Abb. 1

In 6 Versuchen am isolierten unaufgeschnittenen Dünndarm der Ratte fanden wir in der isotonischen 120 mg-% Chlortetracyclin in Natrium-glycinat-Puffer („zur intramuskulären Injektion“) enthaltenden Ringer-



3 Tage lang 5 γ Vitamin B₁₂ täglich

Abb. 2b. Wirkung von Vitamin B₁₂ auf die Passagezeit unbehandelter und 31 Tage mit Tetracyclinen gefütterter Ratten. Ablauf der Passagezeiten wie in Abb. 1

lösung eine Tonussenkung sowie Zunahme der dabei unregelmäßig werdenden Peristaltik (Abb. 3). Die Peristaltikzunahme, nicht aber die Tonussenkung wird durch Zusatz von 6 γ Vitamin B₁₂ aufgehoben.

Diskussion

Aus den Röntgenuntersuchungen der Kontrastmittelpassage an der Ratte geht hervor, daß Chlortetracyclin und Oxytetracyclin die Magen-Darm-Passage beeinflussen. Überraschend war die Beobachtung, daß die Art der Wirkung von der Behandlungsdauer abhängt: die anfänglich

gefundene Verkürzung der Passagezeit geht über eine annähernde Normalisierung¹ schließlich in das Gegenteil, eine Verlangsamung, über. Davon sind ausschließlich die oberen Darmabschnitte betroffen, von denen die Resorption der Tetracyclinderivate angenommen wird. Wie auf Grund der chemischen Verwandtschaft zu erwarten war, ist die Wirkung von Aureomycin und Terramycin qualitativ gleich, wenn auch

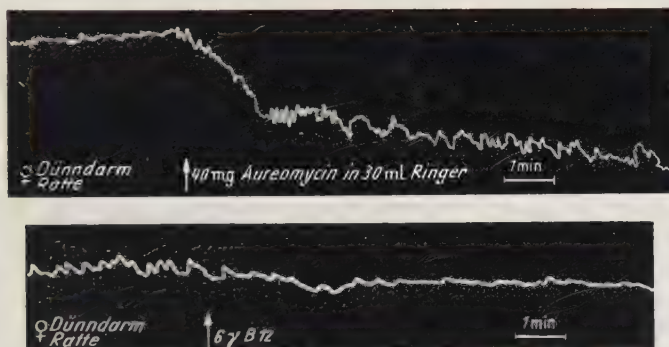


Abb. 3. Kontraktionsablauf am normalen isolierten Dünndarm der Ratte in Ringerlösung und nach Zusatz von Chlortetracyclin (Konz. 120 mg-%) sowie 67 Vitamin B₁₂. Entnahme des Darmstücks in Thiobarbituratnarkose. Trommelgeschwindigkeit 60 cm/Std

ersteres den deutlicheren Effekt zeigt. Das stimmt überein mit den klinischen Erfahrungen, daß in einer großen Zahl der mit oralen Tetracyclinderivatgaben behandelten Fälle gastrointestinale Störungen wie Nausea, Erbrechen, harte und weiche Stühle bis zur Diarrhoe auftreten (ZINZIUS). Nicht übereinstimmen können wir nach unseren Versuchen mit der in der Literatur weit verbreiteten Deutung dieser Störungen als Folge der Änderung der Bakterienflora des Darmes. Nach unseren Versuchen am isolierten Darmstück kommt dem Chlortetracyclin eine direkte Wirkung auf die Motilität zu, wie das von STRÖDER u. SIMON sowie BUSSE für Streptomycin und Chloramphenicol gezeigt werden konnte. Im gleichen Sinne spricht unser Versuch, bei dem wir auf eine einmalige Gabe von Aureomycin und Terramycin unmittelbar nach der Verabreichung eine deutliche Verkürzung der Passagezeit beobachteten. Nicht eindeutig zu klären ist die Ursache für die Verlangsamung der Passage nach längerer Behandlung. Man denkt an die toxische Wirkung sich nach Zerstörung der physiologischen Darmflora entwickelnder Bakterienstämme oder an avitaminotische Störungen durch Verminderung der an der Vitaminsynthese hauptsächlich beteiligten Coli oder durch vermehrten Vitaminverbrauch unphysiologischer Bak-

¹ Die normale Passagezeit unserer Tiere stimmt mit der von GERSHON-COHEN u. SHAY veröffentlichten Bildreihe eines über 3 Std untersuchten Tieres überein.

terienstämme. Über den Einfluß der Vitamine auf die Peristaltik ist nichts bekannt; zudem zeigten unsere Tiere keine sonstigen avitaminotischen Symptome. Auffallend war der rasche Wirkungseintritt des Vitamin B_{12} bei der Normalisierung der Passagezeit, wie wir ihn schon an der Glucosebelastungskurve beschreiben konnten. Es kann sich dabei nicht um Beseitigung eines Vitamin B_{12} -Mangels handeln, da wir früher unter Behandlung mit Oxytetracyclin gesteigerte Erythropoese und zunehmende Erythrocytenzahlen im strömenden Blut, also das Gegenteil eines B_{12} -Mangels beobachteten. Pharmakologisch war am überlebenden Rattendarm nur eine Dämpfung der unregelmäßigen peristaltischen Wellen, aber keine Tonussteigerung auf B_{12} zu finden. Der anfänglichen Passagebeschleunigung und der Verlangsamung nach mehrwöchiger Antibiose am Tier steht am Darmpräparat eine Senkung des Tonus bei vermehrter Peristaltik gegenüber. Die beiden Befunde lassen sich zunächst nicht ganz koordinieren; wir beabsichtigen, am besser geeigneten Meerschweinchendarm den Einfluß der Tetracycline und des Vitamin B_{12} eingehend zu prüfen. Entzündliche Veränderungen, die für die Passageveränderungen verantwortlich gemacht werden könnten, waren histologisch nicht nachweisbar.

Unsere Versuche über die Passagezeit im antibiotisch veränderten Darm ergeben neue Gesichtspunkte für die von uns beobachteten gleichsinnig verlaufenden Änderungen der Resorption von Glucose, Olivenöl, Vitamin A und zweiwertigem Eisen. Die Bedeutung der Darmmotilität für die Resorption ist bekannt (VERZÁR, FRAZER). Leider konnte das Schleimhautrelief, das hauptsächlich vom Tonus der Muscularis mucosae abhängt (FRAZER), mit den uns zur Verfügung stehenden Mitteln nicht untersucht werden. Trotzdem glauben wir annehmen zu dürfen, daß ein kausaler Zusammenhang der etwa gleichzeitig auftretenden Verlängerung der Passagezeit besonders in den oberen Dünndarmabschnitten und der Resorptionssteigerung für Olivenöl, Vitamin A und Fe^{++} besteht. Im Widerspruch dazu scheinen die Ergebnisse unserer Versuche über die Dextroseresorption zu stehen, die durch erhöhte Restglucosewerte im Darm nach der Methode von CORI und Abflachung der Belastungskurve im Blut auf eine negative Veränderung hinweisen. Wir gaben dabei die Zuckerlösung mit der Schlundsonde in den Magen. Da dort praktisch Glucose nicht resorbiert werden kann, wird die in der ersten Stunde aufgenommene Menge im Cori-Versuch und analog dazu der Blutzuckeranstieg in dieser Zeit davon abhängen, wie schnell die Zuckerlösung in Duodenum und Dünndarm übertritt. Bei der stark verlängerten Verweildauer im Magen (bis zu 6 Std) der mehrere Wochen mit Tetracyclinen behandelten Tiere ist anzunehmen, daß während der kurzen Beobachtungszeit der größte Teil des Zuckers im Magen verblieb und so der Resorption entging. Dafür spricht auch die eigentümliche

Wirkung des Vitamin B₁₂, das zu einer Normalisierung der Passagezeit und der Glucosebelastungskurve führte.

Unsere Versuche erweiterten die Befunde anderer Autoren, wonach zahlreiche funktionelle Änderungen im Makroorganismus unter antibiotischer Behandlung auf einer direkten pharmakologischen Wirkung der Antibiotika beruhen (HOCKERTS, HITTMAYER u. STRÖDER).

Zusammenfassung

An 100 Ratten (je 25 Versuchstiere und 50 Kontrollen) wurde der Einfluß akuter und chronischer oraler Tetracyclinmedikation auf die Kontrastmittelpassage im Magen-Darm-Kanal geprüft. Es fand sich

1. eine Verkürzung der Passagezeit besonders in den oberen Darmabschnitten nach einmaliger oraler Gabe.

2. Nach 14 Tagen weiterer Behandlung mit Antibiotika waren die Passagezeiten wieder annähernd normal, bei einem Teil der Tiere noch geringfügig beschleunigt.

3. Am 26. Tage wurde eine deutliche Verlangsamung der Magen-Darm-Passage in den oberen Abschnitten beobachtet, die sich durch i.p. Gaben von insgesamt 15 γ Vitamin B₁₂ aufheben ließ.

Am isolierten überlebenden Darmstück nach der Magnus-Methodik nahm der Tonus auf Aureomycin-Zugabe ab, während die Peristaltik vermehrt wurde. Letztgenannte konnte durch B₁₂-Zusatz unterbunden werden. Die Wirkung des Chlortetracyclins war in allen Versuchsabschnitten der des Oxytetracyclin überlegen. Der Zusammenhang mit den von uns früher beobachteten Resorptionsänderungen für Olivenöl, Glucose, Vitamin A und zweiwertiges Eisen wird diskutiert.

Literatur

BUSSE, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **216**, 331 (1952). — CORI, F.: J. of Biol. Chem. **66**, 691 (1926); **76**, 755 (1928). FISCHER, W., u. K. H. KIMBEL: Z. exper. Med. **125**, 437 (1955). FRAZER, A. C.: Medizinische **41**, 1317 (1953). GERSHON-COHEN, J., and H. SHAY: in „The rat in laboratory investigation“. London 1949. — HOCKERTS, TH., M. L. HITTMAYER u. J. STRÖDER: Cardiologia (Basel) **14**, 5 (1951). — KIMBEL, K. H., E. HEISE u. H. KÖNIG: Z. exper. Med. **123**, 265 (1954). — KIMBEL, K. H., H. BÜNTE, E. HEISE u. W. FISCHER: Z. exper. Med. **124**, 342 (1954). — KIMBEL, K. H., H. BÜNTE u. E. HEISE: Z. exper. Med. **125**, 23 (1955). KIMBEL, K. H., H. BÜNTE u. W. FISCHER: Z. exper. Med. (im Druck). KIMBEL, K. H., W. FISCHER u. H. BÜNTE: Z. exper. Med. **126**, 141 (1955). MAGNUS, R.: Pflügers Arch. **102**, 123 (1904). — STRÖDER, J., u. K. SIMON: Klin. Wschr. **1949**, 788. — VERZÁR, F.: Klin. Wschr. **1933**, 489. — VERZÁR, F., and E. J. McDUGALL: Absorption from the Intestine. London 1936. — ZINZIUS, J.: Hippokrates **6**, 187 (1953); **7**, 211 (1953).

Dr. K. H. KIMBEL, Erlangen, Krankenhausstraße 6,
Klinisch-Chemisches Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik

Aus der medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. HENNING)

Untersuchungen über enterale Antibiose bei der Ratte

X. Mitteilung

**Das Verhalten der Aktivität von Lipase und Diastase des Serums
unter oralen Chlor- und Oxytetracyclingaben**

Von

W. FISCHER, K. H. KIMBEL und K. HEINKEL

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Januar 1956)

Die Beeinflussung der verschiedenen Fermentsysteme ist für die Erklärung des Wirkungsmechanismus der Antibiotika von großem Interesse. Nach den bisherigen Ergebnissen darf angenommen werden, daß die bakteriostatische Wirkung neben hypothetisch erwogenen Permeabilitätsänderungen der Membran der Bakterienzelle zum größten Teil die Fermenttätigkeit betrifft. So sind Störungen verschiedener Fermentsysteme bei Bakterien durch Antibiotika in zahlreichen Arbeiten nachgewiesen worden (MACHEBOEUF u. GROS, UMBREIT). Wegen der geringen Nebenwirkungen auf den höher differenzierten und menschlichen Organismus glaubte man anfänglich, daß nur die bakteriellen Fermente beeinflußt würden. MIRABEAU CRUZ fand aber *in vitro* und *in vivo* eine Vermehrung der Aktivität der Cholinesterase und einer Glycerophosphatase im Serum von Mensch und Meerschweinchen durch Zugabe von Penicillin. FROMMEL und Mitarbeiter geben im Gegensatz hierzu an, daß Penicillin die Cholinesterase im Serum hemmt und auch die Wirksamkeit der Urease und Knochenphosphatase beeinträchtigt. Eine Beeinflussung der reduzierenden Fermentsysteme menschlicher Erythrocyten wird von KÜNZER, AMBS und SCHNEIDER beschrieben: durch Chloromycetin, Aureomycin und Streptomycin ist eine Hemmung, durch Terramycin eine mäßige Aktivierung, durch Penicillin dagegen kein Effekt zu erzielen. Eine Hemmung der oxydativen Phosphorylierung in den Mitochondrien der Rattenleberzellen durch Aureomycin ist aus den Arbeiten VAN METERS und Mitarbeitern bekannt. Auch MULLI, UHLENBROOK u. LUDWIG berichten über die Hemmung eines citronensäurespaltenden Enzyms der Rinderleber durch Aureomycin. JACOBSON u. MIRABEAU CRUZ fanden für Streptomycin eine leichte Aktivierung der Cholinesterase, eine Hemmung von

Fumarase, Aconitase, Glycerophosphatase und Thiaminase und stellten abschließend zur Diskussion, ob nicht die mehr oder weniger starke Hemmung verschiedener menschlicher Fermentsysteme und die damit verbundene Verlangsamung der Umsatzgeschwindigkeit für die Toxizität der Antibiotika verantwortlich gemacht werden müßten.

Diese Arbeiten führten zu der Vorstellung, daß die Nebenwirkungen der Antibiotika nicht nur auf die Wirkung der durch die Behandlung veränderten Bakterienflora zurückgehen, sondern daß daneben eine pharmakologische Wirkung mit einem Angriffspunkt an verschiedenen Fermentsystemen wahrscheinlich ist.

Im Rahmen unserer Untersuchungen am antibiotisch veränderte Darm der Ratte war es notwendig zu klären, ob auch die Verdauungsfermente durch Tetracycline beeinflusst werden. Da wir in vorausgegangenen Arbeiten (KIMBEL, FISCHER) eine Verbesserung der Fettresorption und eine Verlangsamung der Kohlenhydrataufnahme fanden, interessierten uns zunächst die Fermente Lipase und Diastase. Eine Untersuchung der Verdauungsfermente stößt auf erhebliche Schwierigkeiten, da der Verdauungsvorgang *in vitro* nicht reproduzierbar ist. In der Klinik verwendet man zuweilen die Prüfung im Duodenalinhalt. Er setzt sich aus unkontrollierbaren Mengen von Speichel, Magensaft, Duodenalsekret, Galle und Pankreassaft zusammen; die in der Volumeinheit enthaltene Fermentmenge wechselt von Versuch zu Versuch stark, ihre absolute Größe ist nicht zu bestimmen. Zudem wird die Fermentaktivität noch durch Milieuänderungen und Begleitsubstanzen beeinflusst. Bei der Ratte gelingt die Duodenalsondierung nur selten, die Mengen an Verdauungssaft, die gewonnen werden können, sind sehr gering. Aus diesen Gründen schlugen wir auch hier — wie in der modernen klinischen Diagnostik üblich — den Weg ein, uns aus dem Verhalten der Fermente des Blutes ein Bild über Sekretion und Aktivität der genannten Fermente *in vivo* zu verschaffen. Wir wissen dabei, daß Beziehungen zwischen Blut- und Verdauungsfermenten wohl angenommen werden können, aber keinesfalls gesichert sind (HENNING u. HEINKEL).

Außerdem prüften wir die Wirkung der Tetracycline in verschiedener Konzentration auf die Serumfermente des unbehandelten Menschen, da im Darm neben einer Veränderung der Bildung und Sekretion der Fermente auch mit einer direkten Beeinflussung der Enzymaktivität seitens der Tetracycline zu rechnen ist.

Methodik

Bei der Untersuchung der Glucosebelastungskurve an der Ratte hatten wir beobachtet, daß wiederholte geringe Blutentnahmen aus der Schwanzvene zu beträchtlichen Blutverlusten mit einem Absinken des Hämoglobingehaltes von durchschnittlich 14 auf 10 g% führen. Zur Fermentbestimmung sind zwar nur Blutmengen von jeweils 0,05 ml nötig; trotzdem muß bei häufiger Wiederholung und

durch die unvermeidliche oft erhebliche Nachblutung mit der Entwicklung einer Anämie gerechnet werden. Daher erhob sich die für unsere Versuche wichtige Frage, ob letztere den Fermentspiegel im Blut beeinflussen kann. Aus diesem Grunde senkten wir durch 2 Blutentnahmen von je 2 ml aus der Schwanzvene bei einer *ersten Versuchsgruppe* den Hämoglobingehalt auf durchschnittlich 10 g_o. Es handelte sich um 12 junge Albinoratten mit einem mittleren Gewicht von 100 g. Zur orientierenden Prüfung des Tetracyclineinflusses auf den Blutfermentspiegel erhielten außerdem je 4 der Jungtiere täglich 100 mg/kg Aureomycin oder Terramycin in wäßriger Aufschwemmung mit der Schlundsonde in den Magen injiziert; die restlichen 4 Tiere blieben unbehandelt. Nach 7, 16 und 25 Tagen wurde die Aktivität der atoxylresistenten und der Gesamtlipase im Serum der Tiere bestimmt und das Ansteigen des Hämoglobingehaltes im Blut verfolgt. Die Fermentbestimmung wurde morgens am nüchternen Tier vorgenommen. Um einen direkten Einfluß des erhöhten Gehaltes an Antibiotikum auf die Blutfermente zu vermeiden, wurde die letzte Gabe der Tetracycline 24 Std vor Untersuchungsbeginn verabreicht. Die Fermentbestimmung an einem Vergleichskollektiv von 27 gleich schweren und gleichaltrigen Tieren ermöglichte hinreichende Schlüsse über die Veränderung der Serumlipaseaktivität durch Blutungsanämie sowie durch orale Aureomycin- und Terramycingaben.

Eine 2. Gruppe bestand aus 46 erwachsenen Tieren des gleichen Inzuchtstammes mit einem durchschnittlichen Gewicht von 200 g. Je die Hälfte der Tiere erhielt täglich 100 mg/kg Aureomycin oder Terramycin auf die oben beschriebene Weise. Auf Grund der an der ersten Versuchsgruppe gewonnenen Ergebnisse konnte hier die Untersuchung der Blutlipasen auf eine einmalige Bestimmung am 30. Behandlungstag und auf das mit Aureomycin behandelte Kollektiv beschränkt werden. Zum Vergleich dienten die Werte von 132 unbehandelten Tieren. Am gleichen Behandlungstag wurde bei sämtlichen 46 Tieren der 2. Versuchsgruppe die Blutdiastaseaktivität bestimmt. Die Werte wurden mit denen eines Kollektivs von 164 unbehandelten Kontrolltieren verglichen.

Die Lipaseaktivität wurde nach der von SCOZ angegebenen und von HENNING u. HEINKEL für die Untersuchung an der Ratte modifizierten Methode bestimmt: Dem kupierten Schwanzende der Ratte werden mit einer Blutzuckerpipette 0,05 ml Blut entnommen, dieses zu 4 ml 4% Natriumcitratlösung gegeben und zentrifugiert. Der Überstand wird vorsichtig abdekantiert und mit 0,1 ml Tributyrin versetzt. Zur Bestimmung der atoxylresistenten Lipase werden außerdem noch 0,2 ml Atoxyl-Lösung (2% in Aqua dest.) zugegeben. Der Ansatz wird kräftig bis zur Emulsionsbildung geschüttelt und 3 Std im Wasserbad bei 37°C inkubiert. Anschließend wird die Fermenttätigkeit durch Zugabe von 10 ml 80% Äthanol unterbrochen. Die durch das Ferment abgespaltene Buttersäure wird mit n 50 NaOH gegen Phenolphthalein titriert. Man läßt einen Leerwert ohne Serumzusatz mitlaufen. Dieser wird von dem gefundenen Wert abgezogen und die Lipaseaktivität in ml verbrauchter n/50 Natronlauge für 0,05 ml Blut angegeben.

Zur Prüfung des direkten Einflusses der Tetracyclinderivate auf die menschliche Serumlipase in vitro wurde in der gleichen Weise verfahren. An Stelle von 0,05 ml Rattenblut wurde 0,1 ml Serum zu 4 ml Natriumcitrat gegeben, in dem die angegebene Menge Aureomycin oder Terramycin gelöst war. Wir verwendeten die Tetracycline „zur intravenösen Injektion“ mit Zusatz von 90% der Substanzmenge Natriumglycinat, der die Lösung auch höherer Konzentrationen gestattet und die sonst saure Lösung des Hydrochlorids der verwendeten Konzentration von 1–10 mg/4 ml entsprechend auf ein pH zwischen 7,5 und 8,2 bringt. Der Einfluß des schwachen Puffersystems Tetracyclin/Natriumglycinat auf den Laugenverbrauch wurde im unbebrüteten Ansatz ohne Serumzusatz bestimmt und in den Abbildungen graphisch korrigiert. Bei den Versuchen zwischen 0,1 und 1 mg pro Ansatz wurde

reines Aureomycin ohne Pufferzusatz verwendet, hierbei war die Substanzkonzentration so niedrig, daß die Wasserstoffionenkonzentration unbeeinflußt blieb. Das pH des Ansatzes wurde mit Glaselektrode und Gleichspannungsverstärker (Dr. B. LANGE, Berlin) bestimmt.

Die Blutdiastase wurde nach der von SOMOGYI angegebenen Methode in der Modifikation nach HENNING u. HEINKEL bestimmt; 0,05 ml Blut werden mit der Blutzuckerpipette dem kupierten Schwanzende der Ratte entnommen, in 0,95 ml 4% Na-Citrat aufgeschwemmt und zentrifugiert. 0,4 ml des vorsichtig abdekantierten Überstandes werden in 1 ml einer 0,5% Stärkeaufschwemmung und 0,4 ml einer schwach salzsauren NaCl-Lösung (100 ml 1% NaCl + 3 ml 0,1 n HCl) 15 min lang bei 37° inkubiert. (Die Stärkeaufschwemmung wurde wie folgt hergestellt: 2,5 g mehrmals in 0,01 n HCl und 0,05 NaCl gewaschener Maisstärke wurden im Mörtel zerrieben, angeteigt, in 50 ml Aqua dest. aufgeschwemmt und zu 450 ml siedendem Aqua dest. unter kräftigem Umrühren gegeben. Nach kurzem Aufkochen wurde die Aufschwemmung 20 min im siedenden Wasserbad unter häufigem Umschütteln belassen und dann im Eisschrank aufbewahrt. Vor Gebrauch ist kräftig durchzuschütteln.) Nach der Inkubation wurde durch Hinzufügen von 5 ml einer 0,45%-igen Zinksulfatlösung und 1 ml 0,1 n NaOH und sofortiges Aufkochen die Fermentaktivität unterbrochen und der Ansatz enteiweißt. Die anschließende Bestimmung der durch die Diastasewirkung in Freiheit gesetzten reduzierenden Substanzen erfolgte entsprechend der Blutzuckerbestimmung nach HAGEDORN und JENSEN. Als Leerwert liefen jeweils 2 Ansätze mit 0,4 ml 4% Na-Citratlösung mit. Der Zuckerwert wurde aus der Umrechnungstabelle abgelesen und auf mg-% umgerechnet. Der gleichfalls bestimmte Blutzucker sowie der Leerwert wurden von dem Ergebnis abgezogen. Die Aktivität der Diastase wurde in mg abgespaltener Glucose angegeben.

Die Beeinflussung der Blutdiastase *in vitro* wurde an menschlichem Serum bestimmt. Der Arbeitsgang verlief, wie oben beschrieben. An Stelle des Rattenblutes wurden 0,05 ml Serum verwendet. Da die Fermentaktivität im menschlichen Blut geringer ist, wurde gemäß der Vorschrift von HENNING u. HEINKEL 30 min inkubiert. Je 10 γ Aureomycin oder Terramycin wurden zu 0,95 ml Natriumcitratlösung gegeben und die Reduktionsfähigkeit der Antibiotika in einer entsprechenden Bestimmung des Leerwertes berücksichtigt.

Ergebnisse

1. *Vorversuche zur Prüfung des Einflusses größerer Blutentnahmen auf den Serumlipasespiegel unbehandelter und mit Chlor- oder Oxytetracyclin gefütterter Ratten.* Bei jungen Ratten von etwa 100 g Gewicht tritt nach Anämisierung auf durchschnittlich 10 g% Hb durch 2 Blutentnahmen von je 2 ml eine Erniedrigung der Serumlipaseaktivität auf etwa die Hälfte des ursprünglichen Wertes ein (Tabelle 1). Dabei ist es zunächst gleichgültig, ob die Tiere unbehandelt waren oder 7 Tage lang zuvor täglich 10 mg Chlor- oder Oxytetracyclin bekamen. Differenziert man noch in die atoxylresistente Form des Ferments, so findet man, daß dieses weniger betroffen zu sein scheint. Die Erniedrigung der Gesamtlipase ist für alle Gruppen signifikant. Verfolgt man die Fermentaktivität der Tiere weiter, so findet man 9 Tage später wieder annähernd normale Serumlipasewerte; diejenigen der mit Terramycin weiterbehandelten Tiere sind um ein geringes höher, die der Aureomycintiere liegen ein wenig unter der Norm,

Tabelle 1. Mittelwerte (M) und mittlere quadratische Streuung (σ) der Werte für die Aktivität der Gesamtlipase und der atoxylresistenten Form sowie der mittlere prozentuale Anteil (Q) der letzteren an der Gesamtlipase. Sämtliche Werte sind in ml der zur Titration der freien Säure verbrauchten $n/50$ NaOH angegeben. N = Zahl der Versuchstiere

	N	Gesamtlipase		Atoxylresistent		Q	Hb ¹ in g %
		M	σ	M	σ		
<i>Erwachsene Tiere</i>							
a) Kontrollen	132	1,11	0,388	0,63	0,265	57	—
b) 30 Tage mit Aureomycin behandelte Tiere	23	0,61	0,145	0,44	0,144	72	—
<i>Junge Tiere</i>							
c) Kontrollen	26	0,67	0,113	0,44	0,164	65	15,0
Anämische Tiere							
7 Tage							
d) mit Aureomycin behandelte Tiere	4	0,31	0,075	0,23	0,028	74	10,8
e) mit Terramycin behandelte Tiere	4	0,27	0,073	0,17	0,004	63	9,4
f) Kontrollen	4	0,29	0,056	0,18	0,016	62	10,6
16 Tage							
g) mit Aureomycin behandelte Tiere	4	0,56	0,159	0,40	0,101	71	12,8
h) mit Terramycin behandelte Tiere	4	0,74	0,058	0,54	0,073	73	13,2
i) Kontrollen	4	0,66	0,115	0,50	0,063	76	15,0
25 Tage							
k) mit Aureomycin behandelte Tiere	4	0,46	0,085	0,32	0,059	70	14,5
l) mit Terramycin behandelte Tiere	4	0,63	0,221	0,44	0,155	70	14,1
m) Kontrollen	4	0,62	0,135	0,44	0,126	71	12,3

¹ Bei den Gruppen anämisierter Tiere ist zur Veranschaulichung der Blutregeneration der mittlere Hämoglobingehalt angegeben.

der atoxylresistente Anteil scheint bei allen Tieren relativ erhöht. Die statistische Prüfung zeigt, daß die Abweichungen noch im Bereich zufallsbedingter Schwankungen liegen (Statistik II und III). Nach weiteren 9 Tagen, am 18. Tage nach Untersuchungsbeginn, deckt sich die Serumlipaseaktivität der 25 Tage mit Terramycin behandelten Ratten mit der der unbehandelten Tiere, der Blutlipasespiegel der Aureomycintiere ist dagegen leicht, aber signifikant abgesunken.

Aus diesen Vorversuchen an 16 Jungtieren war für den folgenden Versuch an 46 ausgewachsenen Albinoratten aus einem Inzuchtstamm zu schließen, daß

a) schon durch mehrfache Blutentnahmen eine Beeinflussung der Blutfermentwerte eintreten kann,

b) mit einer Beeinflussung der Serumlipasewerte durch orale Gaben substituierter Tetracycline erst nach etwa 3 Wochen zu rechnen war.

Wir bestimmten deshalb bei einer

2. Versuchsreihe von 46. 30 Tage lang mit täglich 25 mg Chlortetracyclin gefütterter, im Mittel 200 g schwerer Ratten nur einmal am 30. Tag die Aktivität der Gesamt- und atoxylresistenten Lipase. Als Kontrollen dienten 132 unbehandelte, gleichaltrige Tiere. Gegenüber letzteren waren zu diesem Zeitpunkt beide Anteile der Fermentaktivität vermindert. So wurden im Mittel bei den Kontrollen zur Titration der von 0,05 ml Plasma aus dem Substrat abgespaltenen Buttersäure $1,11 \pm 0,39$ ml ⁿ NaOH verbraucht, während bei den behandelten Tieren nur $0,61 \pm 0,14$ ml nötig waren. Geringer war die Verminderung des atoxylresistenten Anteils, der von im Mittel 0,61 ml auf 0,44 ml zurückging.

3. Der Einfluß 30tägiger Behandlung mit Aureomycin oder Terramycin auf die Aktivität der Blutdiastase der Ratte. Analog zur Bestimmung der Blutlipase wurde die Blutdiastase untersucht. Während bei den Kontrolltieren durch das Ferment 1427 ± 450 mg Glucose pro 100 ml Plasma abgespalten werden, liegt die Aktivität der 30 Tage mit Terramycin behandelten Tiere zu diesem Zeitpunkt mit 1409 ± 322 mg nahe der Norm, während die der Aureomycintiere mit 1331 ± 289 mg bei einer geringeren Schwankungsbreite im Mittel erniedrigt erscheint (Tabelle 2). Bei der großen Streubreite der Diastasewerte des Kontrollkollektivs liegen jedoch diese Veränderungen im Bereich zufallsbedingter Schwankungen (siehe statistische Bewertung IV). Im Gegensatz zur Lipase ist für die Beeinflussung der Diastase im Blut der behandelten Ratte kein Anhaltspunkt gegeben.

Tabelle 2. Mittelwerte (M) und mittlere quadratische Streuung (σ) der Aktivität der Blutdiastase in mg freigesetzter Glucose/100 cm³ Plasma von ausgewachsenen Kontrollen und 30 Tage mit täglich 25 mg Aureomycin oder Terramycin behandelten Tieren.
 N = Zahl der Versuchstiere

	N	M	σ
Kontrollen	164	1427	450
Mit Aureomycin behandelte Tiere	22	1331	289
Mit Terramycin behandelte Tiere	23	1409	322

Statistische Bewertung der Ergebnisse der Gruppen 1—3:

I. Vergleich der atoxylresistenten und der Gesamtlipase des Kontrollkollektivs mit den 30 Tage mit täglich 25 mg Aureomycin behandelten Tieren.

		Differenz der Mittelwerte	$3 \sigma_{\text{diff}}^1$
Gesamtlipase	$M_a - M_b$	0,50	0,108
Atoxylresist.	$M_a - M_b$	0,19	0,105

¹ Das zur stat. Sicherung nötige, von der Tierzahl abhängige Vielfache von σ_{diff} .

Sowohl atoxylresistente als auch Gesamtlipase sind nach 30tägiger Aureomycinbehandlung signifikant vermindert.

II. Vergleich der Gesamtlipase des Kontrollkollektivs junger Ratten mit der der gleichaltrigen anämischen Tiere unter teilweise verschieden langer Behandlung mit täglich 15 mg Aureomycin oder Terramycin.

	Differenz der Mittelwerte	3,3 σ_{diff}
7 Tage Aureomycin	$M_c - M_d$ 0,36	0,132
7 Tage Terramycin	$M_c - M_e$ 0,40	0,120
Anämische Kontrollen	$M_c - M_f$ 0,38	0,126
16 Tage Aureomycin	$M_c - M_g$ 0,11	0,270
16 Tage Terramycin	$M_c - M_h$ 0,07	0,122
Anämische Kontrollen	$M_c - M_i$ 0,01	0,204
25 Tage Aureomycin	$M_c - M_k$ 0,21	0,157
25 Tage Terramycin	$M_c - M_l$ 0,04	0,360
Anämische Kontrollen	$M_c - M_m$ 0,05	0,284

10 Tage nach einer Blutentnahme von 2 ml ist die Gesamtlipase bei allen Versuchsgruppen signifikant vermindert. Während die Verminderung 9 Tage später bei allen Tieren ausgeglichen ist, geht die Gesamtlipase bei den mit Aureomycin behandelten Tieren nach 25tägiger Behandlung erneut signifikant zurück.

III. Vergleich der atoxylresistenten Lipase junger Ratten mit der gleichaltrigen anämischer Tiere unter teilweise verschieden langer Behandlung mit täglich 15 mg Aureomycin oder Terramycin.

	Differenz der Mittelwerte	3,3 σ_{diff}
7 Tage Aureomycin	$M_c - M_d$ 0,21	0,119
7 Tage Terramycin	$M_c - M_e$ 0,27	0,102
Anämische Kontrollen	$M_c - M_f$ 0,26	0,102
16 Tage Aureomycin	$M_c - M_g$ 0,04	0,218
16 Tage Terramycin	$M_c - M_h$ 0,10	0,162
Anämische Kontrollen	$M_c - M_i$ 0,06	0,147
25 Tage Aureomycin	$M_c - M_k$ 0,12	0,138
25 Tage Terramycin	$M_c - M_l$ 0,00	0,274
Anämische Kontrollen	$M_c - M_m$ 0,00	0,234

Die atoxylresistente Lipase ist 10 Tage nach dem Blutverlust ebenfalls bei allen Tieren signifikant vermindert. Am 19. Tag ist der Normalwert wieder erreicht. Für die mit Aureomycin behandelten Tiere sinken die Werte nach 25 Behandlungstagen erneut ab, ohne daß dieser Abfall statistisch zu sichern wäre.

IV. Vergleich der Blutdiastaseaktivität des Kontrollkollektivs mit den Gesamtheiten der mit Aureomycin oder Terramycin über 30 Tage behandelten Tiere.

		Differenz der Mittelwerte	$3 \sigma_{\text{diff}}$
30 Tage Aureomycin	$M_K - M_A$	96	213
30 Tage Terramycin	$M_K - M_T$	18	228

Es besteht kein statistisch zu sichernder Unterschied zwischen den Mittelwerten der behandelten und unbehandelten Versuchsgruppen.

4. Die Wirkung von Aureomycin und Terramycin auf die Gesamtlipase des menschlichen Serums *in vitro*. In Abb. 1 ist die Wirkung zweier Ver-

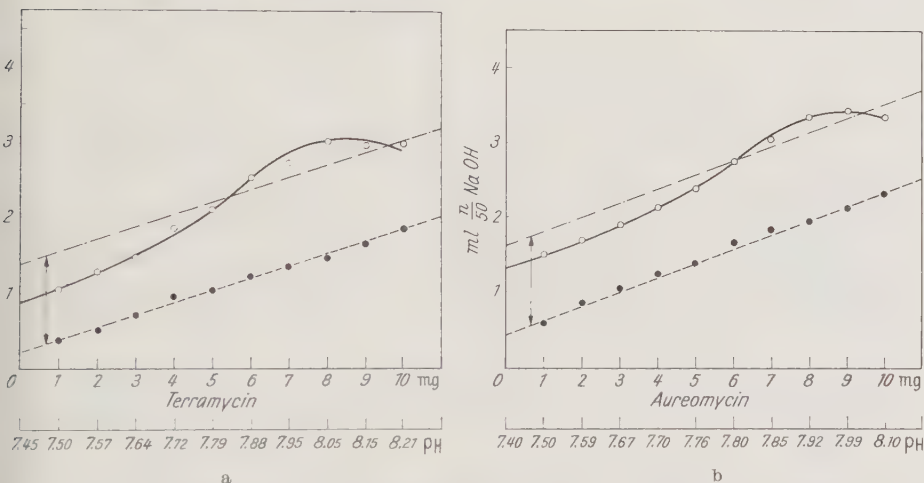


Abb. 1a u. b. Wirkung von Aureomycinzusätzen zwischen 1–10 mg auf die Gesamtlipase in einem Normalserum. •—• zur Titration des zugesetzten Aureomycin notwendige Laugenmenge. ◀—▶ graphisch hinzuaddierter Wert der Serumlipaseaktivität ohne Aureomycinzusatz. o—o Laugenverbrauch nach Inkubation des Serums mit Substrat und Aureomycin

dünnungsreihen von Aureomycin (in Puffergemisch zur intravenösen Injektion) auf die Gesamtlipase im Serum gesunder Vp. dargestellt. Außer den Titrationswerten der Ferment-Aktivität sind auch die Titrationswerte der Verdünnungsreihen ohne Serumzusatz und die Wasserstoffionenkonzentration der jeweiligen Ansätze wiedergegeben. Bei steigenden Aureomycinkonzentrationen von 0,1–1 mg/4 cm³ beobachtet man eine zunehmende Hemmung der Aktivität um 16–22% des normalen Vergleichswertes (Abb. 1a). Die Hemmung erreicht bei Zugabe von 2 mg/4 cm³ mit 29,5% ihren Höhepunkt, um dann rasch geringer zu werden (Abb. 1b). Bei 6 mg/4 cm³ ist wieder normale Aktivität erreicht. Die drei folgenden Werte liegen über der Norm, bis die Zugabe von 10 mg/4 cm³ erneut eine geringfügige Hemmung hervorruft. Aus der Abbildung geht weiter hervor, daß die steigende Konzentration des Aureomycinpuffergemisches das p_H mehr und mehr ins Alkalische verschiebt.

Die gleiche Verdünnungsreihe ergibt für Terramycin (1—10 mg/4 cm³) einen ganz ähnlichen Kurvenverlauf, wie Abb. 2 zeigt. Die Hemmung ist jedoch bei Zugabe von 1 mg Terramycin/4 cm³ mit 35% wesentlich höher

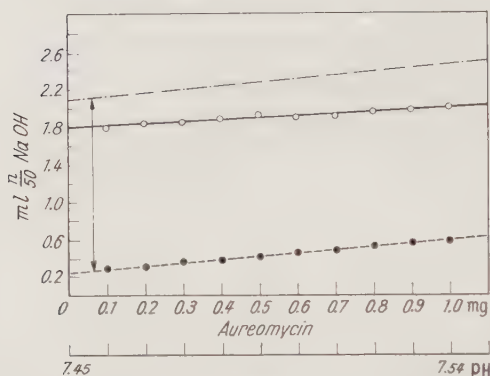


Abb. 2. Wirkung von Terramycinzusätzen zwischen 0,1 und 1,0 mg auf den Gesamtlipasegehalt eines Normalserums. •—• Zur Titration des zugesetzten Terramycin - Lösungsvermittler notwendige Laugenmenge. ◊—◊ graphisch hinzuaddierter Wert der Serumlipaseaktivität ohne Terramycinzusatz. ◊—◊ Laugenverbrauch nach Inkubation des Serums mit Substrat und Terramycin

als bei der gleichen Konzentration von Aureomycin; sie erreicht mit 38% ein Maximum bei 3 mg/4 cm³. Zwischen 6 und 9 mg/4 cm³ ist ebenfalls eine mäßige Aktivierung zu beobachten. Auch hier wird das p_H nach dem Alkalischen verschoben.

Tabelle 3 zeigt die Beeinflussung der Lipaseaktivität durch Aureomycin- und Terramycinzusätze von 4—40γ/4 cm³, einer Serumkonzentration von 1—10γ/ml entsprechend. Die Gesamtlipase wird mit im Mittel 7,3 bzw. 6,6% nurmehr

Tabelle 3. Beeinflussung der Lipaseaktivität (in ml n/50 NaOH) im menschlichen Serum durch Aureomycin und Terramycin in steigender Konzentration von 1—10 γ/ml

Konzentration γ/ml	Gesamtlipase		Atoxylresistente Form	
	Aureomycin	Terramycin	Aureomycin	Terramycin
0	2,33	2,33	0,20	0,20
1	2,16	2,16	0,09	0,11
2	2,19	2,20	0,11	0,10
3	2,17	2,19	0,11	0,16
4	2,10	2,21	0,10	0,11
5	2,15	2,23	0,09	0,12
6	2,20	—	0,11	0,14
7	2,19	2,18	0,11	0,12
8	2,11	2,22	0,12	0,14
9	2,16	2,15	0,12	0,10
10	2,13	2,20	0,10	0,11
M	2,16	2,18	(0,11)	(0,12)
Hemmung in % des Normalwertes: 7,3		6,6	(45)	(40)

geringfügig gehemmt, während der atoxylresistente Anteil eine stärkere Hemmung zu erfahren scheint. Bei der geringen titrierten Menge an freien Säuren sind letztere Werte mit Vorbehalt wiedergegeben, da sich in diesem Bereich ein Titrationsfehler 10fach stärker auswirken

muß. Eine Abhängigkeit der Hemmung von der Konzentration der zugesetzten Tetracycline kann in diesem Bereich titrimetrisch nicht mehr erfaßt werden. Der Hemmeffekt trat in diesem Versuch ebenfalls auf, obwohl reines Aureomycin ohne Pufferzusatz verwendet wurde. Durch

Tabelle 4. *Beinflussung der Lipaseaktivität (in ml n/50 NaOH) im Serum verschiedener Versuchspersonen durch 10 γ /ml Aureomycin und Terramycin*

VP	Kontrolle	Aureomycin	Terramycin	VP	Kontrolle	Aureomycin	Terramycin
<i>I. Gesamtlipase</i>							
1	1,45	1,38	1,13	15	1,92	1,53	1,62
2	1,46	1,39	1,35	17	1,59	1,38	—
3	1,81	1,73	1,46	18	1,17	1,01	0,95
4	1,64	1,37	1,31	19	1,55	1,24	1,31
5	1,82	1,76	1,49	20	1,56	—	1,45
6	1,90	1,64	1,66	21	1,42	1,21	1,27
7	1,76	1,55	1,48	22	1,29	1,14	1,23
8	1,88	1,77	1,38	23	1,05	0,96	0,90
9	1,84	1,76	1,68	24	1,80	1,66	1,48
10	1,63	1,37	1,39	25	1,11	0,94	0,86
11	1,62	1,54	1,40	26	1,09	1,00	0,86
12	1,72	1,49	1,48	27	1,10	1,03	0,85
13	1,60	1,49	1,49	28	1,38	1,24	1,09
14	1,81	1,68	1,68	29	2,32	2,23	2,20
15	1,36	1,31	1,14	30	2,23	2,00	1,91
<i>II. Atoxylresistente Form</i>							
1	0,24	0,08	0,08	6	0,13	0,03	0,06
2	0,10	0,03	0,10	7	0,17	0,10	0,08
3	0,18	0,08	0,12	8	0,14	0,08	0,08
4	0,14	0,07	0,07	9	0,28	0,07	0,14
5	0,19	0,09	0,15	10	0,20	0,12	0,10

den Zusatz der Antibiotika in dieser Konzentration wurde das p_H des Ansatzes nicht verändert.

In einem weiteren Versuch, in dem die Konstanz des beobachteten Hemmeffektes an 30 verschiedenen Seren geprüft werden sollte, wurde nurmehr mit einer Zugabe von 40 γ Aureomycin oder Terramycin/4 cm³ gearbeitet, da, wie oben gezeigt, in diesem Bereich keine Wirkungsabhängigkeit von der Konzentration nachzuweisen ist. Durch die in Tabelle 4 zusammengestellten Werte werden die Ergebnisse von Tabelle 3 für verschiedene Seren bestätigt. Der Hemmeffekt ist in einzelnen Fällen sehr gering und scheint innerhalb der methodischen Fehlerbreite zu liegen. Die immer zu beobachtende Erniedrigung der Aktivität unter Aureomycin- oder Terramycinzusatz gestattet jedoch den Schluß auf eine allgemeine Hemmung. Es bestehen beträchtliche quantitative Schwankungen sowohl

hinsichtlich desselben Tetracyclins auf die verschiedenen Seren als auch zwischen Aureomycin und Terramycin: einmal scheint das eine, dann wieder das andere stärker zu hemmen. Inwieweit die Wirkung von in den Seren enthaltenen Begleitstoffen beeinflußt wird, muß offen bleiben.

Tabelle 5. *Beeinflussung der Diastaseaktivität, gemessen in mg aus Stärke abgespaltener Glucose, im Serum verschiedener Versuchspersonen durch 10 γ /ml Aureomycin und Terramycin*

VP	Kontrolle	Aureomycin	Terramycin
1	141	113	106
2	138	99	102
3	129	70	110
4	111	62	90
5	106	83	97
6	133	95	106
7	79	56	34
8	130	82	115
9	132	77	97
10	108	84	99
11	146	120	102
12	111	90	99
13	141	119	97
14	102	65	54
15	186	173	104
16	161	102	110
17	111	72	—
18	159	122	146
19	202	148	152
20	186	163	122
M	135	99	102
Hemmung in % des Normalwertes:		27	24,4

Im Vergleich zum letzten Versuch wurde die Beeinflußbarkeit der Aktivität der *Blutdiastase* durch Zusätze von 10 γ Aureomycin oder Terramycin /1 cm³ geprüft. Tabelle 5 zeigt die Werte im einzelnen. Man beobachtet eine Hemmung, die mit durchschnittlich 27% für Aureomycin und 24% für Terramycin deutlicher ist als in den entsprechenden Versuchen mit Lipase. Auch hier fanden wir eine große Streubreite der Wirkung auf die verschiedenen Seren.

Diskussion

Nach den Ergebnissen unserer Tierversuche senkt die längerdauernde Verfütterung von täglich 100 mg/kg Aureomycin die Serumlipaseaktivität der Ratte um 45 und 31%, die des atoxylresistenten Anteils um 30 und 27%. Eine noch stärkere Verminderung beobachtet man bei anämisierten jungen Tieren. Da aus Vorversuchen bekannt war, daß der Wirkungs-

eintritt zwischen dem 16. und 25. Behandlungstag liegt, beschränkten wir uns auf eine Fermentbestimmung am 30. Behandlungstag, um eine Täuschung durch den bei mehrmaligen Blutentnahmen eintretenden Blutverlust sicher zu vermeiden. Terramycin ist unter den gleichen Bedingungen erstaunlicherweise ohne signifikanten Einfluß auf die Serumlipaseaktivität. Wenn man auch aus Tabelle 2 ein gleichsinniges Verhalten der Serumdiasase gegenüber den beiden Tetracyclinderivaten vermutet, zeigt doch die statistische Bearbeitung, daß sich bei der erheblichen Streuung der Normalwerte kein signifikanter Unterschied errechnen läßt. Vielleicht wäre von Untersuchungen an einer noch größeren Tierzahl eine Klärung zu erwarten.

Bei der nahen chemischen Verwandtschaft der beiden geprüften Substanzen überrascht zunächst ihre unterschiedliche Wirkung. Obwohl gelegentlich ähnliche Beobachtungen beschrieben wurden, nehmen wir an, daß weniger pharmakologische Differenzen, als der bei der Ratte gegenüber dem Terramycin bei gleicher oraler Dosis um etwa das Siebenfache höhere Blutspiegel des Aureomycin (EISNER, STIRN, DORNBUSH und OLESON) verantwortlich ist. Es kann jedoch aus mehreren Gründen keine direkte Abhängigkeit der Fermentaktivitätshemmung vom Blutspiegel der Antibiotika vorliegen. Wie wir an den anämisierten Tieren, die sich trotz 25tägiger Behandlung mit Tetracyclinen vollständig von der Fermentaktivitätssenkung erholten, deutlich sahen, setzt die Wirkung des Aureomycin erst zwischen dem 16. und 25. Behandlungstage ein. Da wir 24 Std vor der Fermentanalyse kein Antibiotikum mehr gaben, spricht auch der am Untersuchungstage mit $\frac{1}{6}$ der sonst herrschenden Blutkonzentration zu veranschlagende Aureomycinspiegel gegen eine solche Annahme. Eine Erklärung ist also in einem indirekten Einfluß zu suchen. Die Versuche an den anämischen Jungtieren geben dazu einige Hinweise. Sie lassen einmal an eine hypoxämische Schädigung der fermentliefernden Zellen denken, deren Folgen auch durch eine Hemmung der an der Zellatmung beteiligten Fermente zustande kommen können. Zu diskutieren ist auch, daß durch die von uns früher beobachtete Verschiebung der Eiweißzusammensetzung bei unverändertem Gesamteiweißgehalt zugunsten der β -Globulinfraction (BÜNTE u. KIMBEL) eine bestimmte fermenttragende Fraktion vermindert wird. Versuche von HEINKEL zeigen jedoch, daß die Aktivität von Serumlipase und Diasase sich keiner bestimmten, papierelektrophoretisch abzutrennenden Fraktion zuordnen läßt. Daß die Wirkung des Aureomycin sich nicht nur auf ein einziges an der Fermentsynthese beteiligtes Organ erstreckt, ist daraus zu vermuten, daß sowohl die nichtatoxylresistente, wie die resistente Form betroffen sind. Erstere soll hauptsächlich in der Leber und in geringerem Umfang in den Blutzellen, letztere im Pankreas gebildet werden (RONA, PETOW u. SCHREIBER).

Neben der Beeinflussung der Fermentaktivität *in vivo* ist die zwar wesentlich geringere Hemmung *in vitro* nicht zu übersehen. Zugabe von 4—40 γ eines der beiden Tetracycline zum Serum unbehandelter Vp. hat eine geringfügige, aber deutliche Hemmung beider Lipaseformen zur Folge. Bei den genannten geringen Konzentrationen lösen sich die reinen Substanzen ohne Zugabe einer Puffersubstanz und verändern dabei kaum

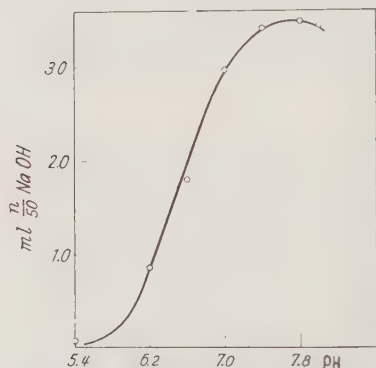


Abb. 3. Abhängigkeit der Serumlipaseaktivität von der Wasserstoffionenkonzentration ($\frac{m}{15}$ Phosphatpuffer)

die Wasserstoffionenkonzentration der nahezu neutralen Natriumcitratlösung (p_H 7.7). Man darf daher die Hemmung auf das Antibiotikum selbst und nicht auf p_H -Änderungen beziehen. Letztere spielen jedoch bei einer Erhöhung des Antibiotikazusatzes, die die Zugabe von Natriumglycinat erforderlich macht, um die Substanz in Lösung zu bringen, eine Rolle. Während eine Natriumglycinatlösung alleine in der als Lösungsvermittler verwendeten Konzentration wegen der alkalischen Reaktion nicht zu prüfen ist, beobachtet man bei der Erhöhung der Konzentration beider Komponenten eine mäßige Zunahme

der Alkaleszenz, die bei Werten über p_H 7,8 eine Umkehr der Hemmung in eine Wirkungssteigerung des Ferments zur Folge hat. Diese erklärt sich leicht aus der Abhängigkeit der Serumlipaseaktivität vom p_H des Reaktionsgemisches. Wie in Abb. 3 dargestellt, hat erstere bei dem p_H von 7,8 ein Optimum.

Unsere Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Befunden von JACOBSON u. AZEVEDO, die bei einer Konzentration von 5 mg/ml eine Aktivierung der Serumlipase des Kaninchens durch Aureomycin und Terramycin fanden. Da keine Angaben über die Lösung der beiden Tetracyclin-derivate und die dabei erreichte Wasserstoffionenkonzentration gemacht werden und außerdem eine stalagmometrische Methode in Phosphatpuffer verwendet wurde, sind ihre Ergebnisse mit den unsrigen nicht ohne weiteres zu vergleichen. Vielleicht arbeiteten die Autoren zufällig im Bereich des durch den Lösungsvermittlerzusatz erreichten p_H -Optimums der Lipase. Inwieweit die für die Serumlipase erhobenen Befunde auch für die Lipase im Verdauungskanal gelten, läßt sich nicht übersehen. Bei der geringen Spezifität des Tributyrin als Substrat ist nicht sicher zu sagen, ob sich der Einfluß der Tetracycline auch auf andere erfaßte Esterasen erstreckt. Sicher ist jedoch eine Erholung der Aktivität der fettspaltenden Enzyme durch die Antibiose auszuschließen, die nach der früher beobachteten Verbesserung der Fettresorption anzunehmen war.

Zusammenfassung

Der Einfluß von Chlor- und Oxytetracyclin auf die Serumlipaseaktivität wurde mit titrimetrischer Bestimmung der aus Tributyrin freigesetzten Buttersäure nach SCOZ sowie HENNING und HEINKEL in vivo an der behandelten Ratte und in vitro am Serum unbehandelter Versuchspersonen untersucht. Die Wirkung auf die Serumdiastase wurde in entsprechenden Versuchen mit der von SOMOGYI angegebenen und von HENNING u. HEINKEL modifizierten Methode geprüft. Es wurden folgende Befunde erhoben:

1. Bei 12 wachsenden Ratten, die durch 2 Blutentnahmen anämisiert waren, sank der Serumlipasespiegel auf etwa die Hälfte ab, gleichgültig, ob sie eine Woche lang mit Chlor- oder Oxytetracyclin behandelt wurden oder nicht. Nach Besserung der Anämie normalisiert sich die Serumlipaseaktivität aller Tiere annähernd, nach weiterer antibiotischer Behandlung sinkt sie bei den mit Chlortetracyclin behandelten Tieren signifikant ab.

2. Nach 30-tägiger Behandlung mit täglich 25 mg Chlortetracyclin war bei einer Gruppe von 23 erwachsenen Tieren die Aktivität der Gesamtlipase im Mittel um 45%, die des atoxylresistenten Anteils um 30% gegenüber einem Normalkollektiv von 132 Tieren signifikant vermindert.

3. An einer Gruppe von 4 mit Terramycin behandelten Ratten wurde während einer Behandlungsdauer von 25 Tagen keine Veränderung der Lipaseaktivität gefunden.

4. 30-tägige Behandlung mit Aureomycin oder Terramycin ließ den Diastasegehalt des Blutes von 46 Ratten unbeeinflusst. Eine geringe Verminderung bei den Aureomycintieren erwies sich einem Kontrollkollektiv von 164 Tieren gegenüber als nicht signifikant.

5. Zugabe von 4–40 γ Aureomycin oder Terramycin zu 0,1 ml Serum unbehandelter Versuchspersonen setzt die Aktivität beider Lipaseformen herab. Die Hemmung der Gesamtlipase betrug etwa 7%, die der atoxylresistenten Form lag darüber.

Der Hemmeffekt wies bei 30 untersuchten Seren beträchtliche Schwankungen auf.

6. Mit steigender Konzentration der Tetracycline nahm der Hemmeffekt zu, um für Aureomycin bei 2 mg/4ml mit 29,5%, für Terramycin bei 3 mg/4ml mit 38% den Höchstwert zu erreichen.

7. Zwischen 6 und 9 mg/4ml wurde die Hemmung aufgehoben und eine mäßige Aktivierung gegen die obere Grenze dieses Bereiches beobachtet. Durch Bestimmung des p_H in den Ansätzen wurde wahrscheinlich gemacht, daß die Abnahme der Hemmung auf eine Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration nach dem p_H -Optimum der Lipase hin zurückzuführen ist. Den Tetracyclinen käme demnach eine hemmende

Wirkung zu, nachdem ein entsprechender Einfluß der bei höherer Konzentration verwendeten Puffersubstanzen ausgeschlossen werden darf.

8. In einer Konzentration von 10 γ /0,1 ml Serum hemmte Aureomycin die Serumdiastase um durchschnittlich 27%, Terramycin um 24,4%, wie die Untersuchung von 20 Seren unbehandelter Versuchspersonen ergab.

Literatur

BÜNTE, H., u. K. H. KIMBEL: Z. exper. Med. **125**, 40 (1955). — DANOPOULOS, E., B. ANGELOPOULOS, C. ZIOUDROU and P. AMIRA: Antibiotics a. Chemother. **4**, 451 (1954). — EISNER, H. J., F. E. STIRN, A. C. DORNBUSH and J. J. OLESON: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **108**, 422 (1953). — FISCHER, W., u. K. H. KIMBEL: Z. exper. Med. **125**, 437 (1955). — FROMMEL, E., A. GOLDFIEDER u. J. PIQUET: Acta pharm. tox. (Kopenhagen) **2**, 207 (1946). — HAGEDORN, H. C., u. B. N. JENSEN: Biochem. Z. **135**, 46 (1923). — HEINKEL, K.: Unveröff. Mitteilung. — HENNING, N., u. K. HEINKEL: Klin. Wschr. **1952**, 564. — Z. exper. Med. **120**, 221 (1953). — JACOBSON, K. P., u. J. MIRABEAU CRUZ: Arch. portug. Sci. Biol. Suppl. **9**, 124 (1947). — JACOBSON, K. P., u. M. D. DE AZEVEDO: Exper. Med. et Surg. **11**, 149 (1953). — KIMBEL, K. H., E. HEISE u. H. KÖNIG: Z. exper. Med. **123**, 246 (1954). — KIMBEL, K. H., H. BÜNTE, E. HEISE u. W. FISCHER: Z. exper. Med. **124**, 342 (1954). — MACHEBOEUF, M., et F. GROS: 2^{ème} Congr. intern. Biochim., Symposium sur le mode d'action des antibiotiques **1952**, 101. — MIRABEAU CRUZ: J. Arch. portug. Sci. Biol. Suppl. **9**, 23 (1946). ; **9**, 97 (1947); **9**, 122 (1947). — MÜLLI, K., K. UHLENBROOK u. L. LUDWIG: Arzneimittel-Forsch. **3**, 559 (1953). — RONA, P., H. PETOW u. H. SCHREIBER: Klin. Wschr. **1922**, 2366. — SCOZ, G., u. L. GUZZI: Klin. Wschr. **1940**, 1014. — SOMOGYI, M.: J. biol. Chem. **125**, 399 (1938). — UMBREIT, W. W.: 2^{ème} Congr. intern. Biochim., Symposium sur le mode d'action des antibiotiques **1952**, 63.

Dr. K. H. KIMBEL, Berlin N 65, Müllerstraße 170—172,
Hauptlaboratorium der Schering AG.

Schrifttum und abschließende Betrachtung

Nach klinischen Mitteilungen (*Zinzius*) und Tierexperimenten (*Kimbel, Heise* und *König*; *Kimbel* und *Heise*) überraschte es zunächst, daß die Resorption aus dem antibiotisch veränderten Darm nicht verringert war. Man hatte angenommen, daß die Veränderung der Darmflora über einen Vitaminmangel zu einer schlechteren Nahrungsausnutzung im Darm führe. Im Gegensatz hierzu konnte gezeigt werden, daß längere Verabreichung von Tetracyclinderivaten zu einer Erhöhung der Fettresorption um 5 bzw. 2% im Mittel führt, was bei der großen Zahl der Versuche statistisch gesichert werden konnte. Wesentlich deutlicher zeigt sich dieser Effekt bei der Vitamin A - Resorption, wo eine Steigerung um 39% erreicht wurde. Der Unterschied in der Resorptionsbeeinflussung der beiden geprüften Substanzen erklärt sich wohl hauptsächlich dadurch, daß die Kontrollen die gebotene Fettmenge bereits zu 91% resorbierten, während die hohe Vitamin A - Gabe von den unbehandelten Tieren nur zu 38% aufgenommen wurde. In letzterem Falle kann sich verständlicherweise ein steigender Effekt viel stärker auswirken.

Die gebesserte Fettresorption ließ zunächst an eine positive Beeinflussung der Lipase durch die Antibiotika denken. In entsprechenden Versuchen konnte jedoch dafür kein Anhalt gefunden werden.

Da nach neueren Untersuchungen (*Frazer*) die Fettresorption in hohem Maße vom Emulsionsgrad des Fettes abhängt, mußte die Oberflächenaktivität der Tetracycline geprüft werden. Dabei stellte sich heraus, daß auch von dieser Seite die Resorption nicht beeinflusst werden kann.

Weiterhin ist bekannt, daß die Darmmotilität für die Resorption von Bedeutung ist (*Verzar, Frazer*). Dabei müssen drei Arten von Motilität unterschieden werden: Die peristaltischen Wellen sind für den Transport des Chymus verantwortlich; von ihrer Intensität hängt die Verweildauer in den resorbierenden Darmabschnitten ab. Die sogenannten Segmentationsbewegungen sorgen für die Durchmischung des Chymus, sie bringen vor allem Ferment und Substrat in engen Kontakt und begünstigen damit den zur Resorption erforderlichen Abbau der Nahrung. Schließlich ist noch die Tätigkeit der Muscularis mucosae zu erwähnen, die durch Bewegung der Darmzotten offenbar den Abfluß der Resorptionsprodukte aus der Darmwand fördert und damit das Gleichgewicht in Richtung Abbau verschiebt.

Mit der Röntgenuntersuchung der Kontrastmittelpassage läßt sich die Auswirkung der peristaltischen Wellen erfassen. Dabei beobachtet man bei den behandelten Tieren jenseits der zweiten Behandlungswoche eine Ver-

längerung der Passagezeit, besonders in den oberen Darmabschnitten. Das bedeutet eine längere Verweildauer des Chymus im Bereich der resorptionsfähigen Darmschleimhaut.

Dieser Befund vermag zwanglos die zunächst überraschende Tatsache zu erklären, daß die Tetracyclinderivate jenseits der zweiten Behandlungswoche zu einer konstanten Steigerung der Resorption von Fetten und Vitamin A führen. Gestützt wird diese Annahme weiterhin durch die Tatsache, daß Aureomycin sowohl hinsichtlich der Beeinflussung der Resorption als auch der Darmmotilität dem Terramycin an Wirkung überlegen ist.

Heute sind noch nicht alle Probleme der Permeabilität der Darmwand geklärt. (*Lehnartz*). *Frazer* konnte z.B. für das Sprue-Syndrom zeigen, daß ohne das Versagen irgendeines spezifischen Vorganges bei der Glukose- oder Fettresorption die allgemeine Resorptionskapazität herabgesetzt ist. Auf der anderen Seite ist bekannt, daß frische entzündliche Erscheinungen zu einer gesteigerten Durchlässigkeit für Fette und Aminosäuren führen (*Vogt; Mahler*). Histologisch finden sich nun zu Beginn der antibiotischen Behandlung Reizerscheinungen, die im weiteren Verlauf abklingen. Sie könnten meines Erachtens für die gesteigerte Fettaufnahme während der ersten Zeit des Versuches verantwortlich gemacht werden. Ob dabei gesteigerte Zottentätigkeit oder erhöhte peristaltische Pendelbewegungen eine zusätzliche Rolle spielen, kann nicht entschieden werden.

Einen ähnlichen Effekt bei kurzfristiger Behandlung stellten *Fernando, Bost* und *Brenot* für die Resorption von Aminosäuren aus der in vivo isolierten Darmschlinge fest. Nach einmaliger Aureomycin-Penicillingabe ist die N-Resorption mit 2.62 mg gegenüber den Kontrollen (1.64 mg) erheblich gesteigert. Die starke Wirkung ist wohl teilweise dadurch zu erklären, daß in diesem Fall der Effekt der beschleunigten Passage entfällt.

Von großem wissenschaftlichen und praktischen Interesse war die Entdeckung, daß verschiedene Antibiotika, darunter die Tetracyclinderivate, neben der bekannten antibakteriellen auch eine wachstumsfördernde Wirkung haben (*Stokstad, Jukes, Pierce, Page* und *Franklin; Stokstad und Jukes; Cunha, Burnside, Buschmann, Glassok, Pearson* und *Shealy; Jukes, Stokstad, Taylor, Cunha, Edwards* und *Meadow*). Die Wachstumsbeschleunigung nimmt mit zunehmendem Alter ab und kann offenbar die Größe des ausgewachsenen Tieres nur innerhalb der erbgebundenen Variationsbreite beeinflussen.

Es liegt nahe, die bei der Untersuchung der Resorption gewonnenen Ergebnisse in Beziehung zum wachstumssteigernden Effekt der Antibiotika zu setzen.

Da die Antibiotika als antibakterielle Substanzen entdeckt und bekannt waren, suchte man bisher die Ursachen ihres wachstumssteigernden Effektes im wesentlichen in den Folgen einer qualitativ und quantitativ veränderten Darmflora. (*Jukes; Quinn; Romoser, Slinger* u. a.). Nach Jukes sind dabei folgende Vorstellungen möglich:

1. Erhöhte Synthese von essentiellen oder sonstigen Wachstumsfaktoren durch Bakterien im Darm (*Romoser; Monson; Jukes und Williams; Biely und March; Eisenstark*).
2. Hemmung von Bakterien, die mit dem Wirtsorganismus hinsichtlich wichtiger Nährstoffe konkurrieren.
3. Hemmung von Bakterien, die subklinische Infektionen hervorrufen, d. h. Unterdrückung von Keimen, die toxische Reaktionen verursachen und dadurch das Wachstum der Tiere hemmen (vgl. *Sieburth c. s., Merchant*). Diese Annahme stützt sich vor allem auf die Abhängigkeit des Wachstumseffektes vom „disease level“ (*White-Stevens; Carter, McGinnis*).

Aus verschiedenen Arbeiten (*Brüggemann; Schole; Peterson und Johansson*) geht jedoch hervor, daß die erwähnten Hypothesen nur Teil-erklärungen darstellen können.

Die antibakterielle Wirkung vermag weiterhin den erhöhten Vitamin A - Gehalt (teilweise um 141 %) in Blut und Leber der behandelten Tiere (*Burgess*) nicht zu erklären, da Vitamin A von den Keimen im Darm weder gebildet noch verbraucht wird. Hier ist zweifelsohne eine Steigerung der Resorption anzunehmen, wie ich sie in meinen Versuchen gerade für Vitamin A nachweisen konnte.

Aber auch die Erhöhung der Resorptionsquote für Fett und namentlich Eiweiß ist in diesem Zusammenhang zu diskutieren. Normalerweise beträgt z. B. die Fettausnutzung im Darm der Ratte 91 %, die von Eiweiß 80 % (*Cremer und Lingen*), während die Gewichtszunahme bei gesteigertem Wachstum in der Regel 5—10, in Ausnahmefällen 20 % gegenüber den Kontrollen beträgt (*Jucker c. s.*). Nach weiteren Versuchen ist eine Resorptionssteigerung auch für Eiweiß unter der Behandlung nachgewiesen (*Fernando c. s., Forbes*). Auch anorganische Substanzen scheinen vermehrt resorbiert zu werden, wie die um 100 % gesteigerte Aufnahme von Kalzium zeigt (*Migicovsky*). Bei der Eisenresorption liegen offenbar dem Aufnahmemechanismus zufolge eigene Verhältnisse vor (*Stern, P. c. s.*). Damit dürfte am wachstumssteigernden Effekt der Antibiotika der Resorptionserhöhung ebenfalls eine Teilfunktion zukommen.

Zur weiteren Klärung dieser Frage untersuchte ich zusammen mit *Kimbel, Bunte* und *Heise* nach längerer Terramycinbehandlung im Cori-

Versuch an der Ratte die Glukoseresorption. Es zeigte sich, daß die im Darm nach einer Stunde gefundenen Glukosewerte erhöht sind. Dieser Befund spricht für eine Resorptionsverlangsamung. Im gleichen Sinne spricht die nach längerer Behandlung abgeflachte und verbreiterte Glukosebelastungskurve (*Kimbel, Heise und König*). Über die wirkliche Ausnutzung verführter Kohlehydrate kann aus diesen Versuchen keine Aussage gemacht werden. Es wäre denkbar, daß die verlangsamte Zuckerresorption durch Verlängerung der Verweildauer in den resorbierenden Darmabschnitten ausgeglichen oder vielleicht sogar überkompensiert wird.

Da für die Verlangsamung der Glukoseresorption Vitaminmangel, der zu derartigen Erscheinungen führen kann, (*Lattes; Magyar; Ehrenberg*), nicht nachgewiesen werden konnte, wäre an eine durch die Behandlung veränderte Nebennierenrinden — (NNR) — Aktivität zu denken, da bekanntlich von dieser die Resorption bestimmter Zucker abhängt.

Die gesteigerte Fettresorption ist kein Beweis gegen diese Annahme, da die Aufnahme von Fetten aus dem Darm nach neueren Untersuchungen nicht von der NNR beeinflußt zu werden scheint (zit. nach *Lehnartz*).

Die Beeinflussung der N-Bilanz (*Hohls; Forbes*), die Erhöhung des N-Gehaltes in der Muskulatur (*Catron*), die Senkung der Blutzuckernüchternwerte (*Kimbel, Heise und König*), der flachere Blutzuckerkurvenverlauf nach Adrenalinbelastung (*Fischer*, nicht veröffentlicht), die Beeinflussung der Bluteosinophilenwerte (*Bünthe; Schole*) sowie das Verhalten der Nebennierengewichte, ihres Ascorbinsäuregehaltes und der Kerndurchmesser der Transformationszone (*Brüggemann, Karg und Schole*) sprechen für ein Einwirken der Antibiotika auf die NNR-Aktivität. Ob es sich dabei um eine Stressreaktion oder einen Antagonismus handelt, ist noch ungeklärt. Nach verschiedenen Arbeiten können offenbar bestimmte Antibiotika wie in unseren Versuchen über eine anfängliche Steigerung zu einer späteren scheinbaren — durch Kumulation der Antagonisten — oder tatsächlichen — durch dauernde Überforderung — Herabsetzung der NNR-Aktivität führen. Toxische Dosen müßten demnach zu einem Versagen der NNR führen, wofür Befunde am Hund (*Sedwitz c. s.*) und am Menschen (*Bateman c. s.*) zu sprechen scheinen. Das hier diskutierte Problem bedarf noch eingehender Klärung. Die dabei zu erwartenden Ergebnisse wären sowohl hinsichtlich des Wachstumseffektes der Antibiotika als auch wegen der in seltenen Fällen möglichen Komplikation bei der Behandlung von Patienten (*Bateman*) bedeutsam. Darüber hinaus ließe sich vielleicht auch ein Einblick gewinnen, wie der vielzellige Organismus durch hormonale Gegenregulation die energiestoffwechselsenkende Wirkung der Antibiotika, die von verschiedenen Autoren (*Mulli; Schole*) für die Bakteriostase diskutiert wird, kompensieren kann.

Die Untersuchungen der verschiedenen Auswirkungen der Tetracyclin-derivate am antibiotisch veränderten Darm der Ratte und die im Zusammenhang damit diskutierten Fragen zeigen, daß neben einer Wirkung auf Mensch und Tier durch die veränderte Darmflora der Frage nach dem direkten Eingreifen der Antibiotika in verschiedene Funktionen des „Makro-organismus“ größere Beachtung geschenkt werden sollte.

Literatur

- BATEMAN, J. C., J. R. BARNERIO, P. F. GRICE, C. T. KLOPP u. H. PIERPONT: Arch. Int. Med. **90**: 763 (1952); – BIELY, J. u. B. March: Science **114**: 330 (1950); – BRUGGEMANN, J.: Symposion on Antibiotics and New Growth Faktors in Animal Nutrit, Rom Mai 1955; – BRUGGEMANN, J., H. KARG u. J. Schole: Vitamine u. Hormone **7**: 338 (1956); – BUNTE, H.: Dissert., Erlangen 1956; – BURGESS: zit. n. Jukes; – CARTER, C. H.: zit. n. Jukes; – CATRON, D. V.: Sympos. Antibiot. in d. Tierernährung, München, Sept. 1954; – CREMER D. u. H. LINGEN; Hoppe Seylers Z. **295**: 10 (1953); – CUNHA T. J., c. s.: Arch. Biochem. **23**: 324 (1950); – EHRENBERG, R.; Klin. Wschr. **1947**: 711, Naturwissenschaft. **40**: 413 (1953); – EISENSTARK, A. u. R. D. DRAGSDORF: Poultry Sc. **32**: 840 (1953); – EISENSTARK, A. u. P. SANFORD: ibid. **32**: 837 (1953); – FERNANDO, R., J. BOST u. D. BRENOT: C. R. hebdom. Seances Acad. Sci. **236**: 1618 (1953); – FORBES, R. M.: J. Nutrit. **10**: 275 (1954); – FRAZER, A. C.: Medizinische **41**: 1317 (1953); – HOHLS, H. W.: Arch. für Geflügelk. **18**: 304 (1954) – JUCKER, H., c. s.: Schweiz landwirtschaftl. Mtsh. **33**: 3 (1955); – JUKES, T. H.: Symp. Antibiot. in d. Tierernährung, München 1954; – JUKES, T. H. u. W. L. WILLIAMS: Pharmacol. Rev. **5**: 381 (1953); – JUKES, T. H. c. s.: Arch. Biochem. **26**: 324 (1950); – KIMBEL, K. H., E. HEISE, u. H. KONIG: Z. exper. Med. **123**: 264 (1954); – KIMBEL K. H., H. BUNTE u. E. HEISE: ibid. **125**: 23 (1955); – LATTES, F.: Bol. soc. ital. Biol. Sper. **13**: 661 (1938); – LEHNARTZ, E.: Einführ. i. d. chem. Physiol., Berlin 1949; – MAGYAR, J.: Experientia **5**: 208 (1949); – MAHLER, P.: Z. exper. Med. **85**: 112 (1932); – MERCHANT, I. A.: Veter. Bacteriol., 3. Edit. 1946; – MIGICOVSKY: zit. n. Jukes; – MONSON, W. J., c. s.: J. Nutrit. **10**: 627 (1954); – MULLI, K., c. s.: Arzneimittelforsch. **3**: 559 (1953); – PETERSON, G. E. u. K. R. JOHANSSON: Antibiot. Ann. **1953/54**: 386; – QUINN, L. Y., c. s.: Antibiot. a. Chemotherap. **3**: 537 (1953); – ROMOSER, G. L., c. s.: ibid. **2**: 42 (1952); Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **83**: 17 (1953); – SCHOLE, J.: Diss. agr., Weihenstephan 1955; – SEDWITZ, J., c. s.: Antibiot. a. Chemotherap. **III**, **10**: 1115 (1953); – SIEBURTH, J. MCN, c. s.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **77**: 15 (1951); – SLINGER, S. J., c. s.: J. Nutrit. **11**: 75 (1954); – STERN, P., R. KOSAK u. A. MISIRLIJA: Acta Med. Yougosl. **IV**, **10**: 164 (1954); – STOKSTAD, E. L. R. c. s.: J. Biol. Chem. **180**: 647 (1949); – STOKSTAD, E. L. R. u. T. H. JUKES: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **73**: 523 (1950); – VERZAR, F.: Klin. Wschr. **1933**: 489; – VOGT, H.: Grundzüge d. Pathol. Physiol. München/Berlin 1953; – WHITE STEVENS: zit. n. Jukes; – ZINZIUS, J.: Hippokrat. **6**: 187, **7**: 211, **9**: 279 (1953).

